

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS EXATAS – DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Guilherme Augusto Barbosa

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, REATIVIDADE E POTENCIAL
ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DE COMPLEXOS NITROSILOS DE RUTÊNIO
(II) CONTENDO O LIGANTE *BIS[2-(DIFENILFOSFINA)FENIL]ÉTER*
(DPEphos)

CURITIBA
2015

GUILHERME AUGUSTO BARBOSA*

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, REATIVIDADE E POTENCIAL
ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DE COMPLEXOS NITROSILOS DE RUTÊNIO
(II) CONTENDO O LIGANTE *BIS[2-(DIFENILFOSFINA)FENIL]ÉTER*
(DPEphos)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química do Setor de Ciências Exatas da Universidade Federal do Paraná como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química na área de Química Inorgânica.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Peres de Araujo

*Bolsista CNPq

CURITIBA

2015

B238s

Barbosa, Guilherme Augusto

Síntese, caracterização, reatividade e potencial antibacteriano in vitro de complexos nitrosilos de rutênio (II) contendo o ligante BIS[2-(difenilfosfina)fenil]éter (DPEphos)/ Guilherme Augusto Barbosa. – Curitiba, 2015.

85 f. : il. color. ; 30 cm.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-graduação em Química, 2015.

Orientador: Márcio Peres de Araujo .

Bibliografia: p. 79-84.

1. Rutênio. 2. Ligantes (Bioquímica). 3. Reatividade (Química). 4. Agentes antibacterianos. I. Universidade Federal do Paraná. II. Araujo, Márcio Peres de. III. Título.

CDD: 661.0632

TERMO DE APROVAÇÃO

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, REATIVIDADE E POTENCIAL ANTIBACTERIANO IN
VITRO DE COMPLEXOS NITROSILOS DE RUTÊNIO(II) CONTENDO O LIGANTE
BIS[2-(DIFENILFOSFINA)FENIL]ÉTER (DPEPHOS)**

por

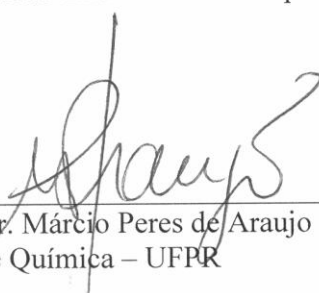
GUILHERME AUGUSTO BARBOSA

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de

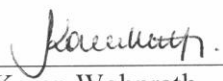
Mestre no Programa de Pós-Graduação em Química,

pela Comissão Examinadora composta por:


Orientador:



Prof. Dr. Márcio Peres de Araujo
Dep. de Química – UFPR



Prof.ª Dr.ª Karen Wohnrath
Dep. de Química – UEPG



Prof. Dr. Flávio Massao Matsumoto
Dep. de Química – UFPR

Curitiba, 06 de março de 2015.

*Dedico todo meu esforço
ao meu alicerce para todas as situações,
minha família.*

Fim de tarde

Toda a graça do céu azul

Nuvens que aquarelam a imensidão

Preenchem o espaço com sua sutil elegância

Céu azul com nuvens cor-de-rosa

Feito o algodão doce na mão de um menino de vinte e cinco anos

Fim de tarde

Sem girassol

Mas com as andorinhas que deveras graciosas

desfrutam da liberdade para passear

neste lençol.

(Guilherme Augusto Barbosa)

AGRADECIMENTOS

Serei eternamente grato a Deus, aos meus pais, Nilcéia e Nico e as minhas irmãs, Janaina e Tais, que sempre me apoiaram em todas as decisões, tanto pessoais quanto profissionais e que tanto me incentivaram e deram forças para que eu pudesse realizar mais este sonho.

Os meus sinceros agradecimentos vão ao Prof. Dr. Márcio Peres de Araujo pela oportunidade e acolhimento em seu grupo de pesquisa, desde a iniciação científica, no qual a paciência e incentivo sempre estiveram presentes, juntamente com as incansáveis discussões acerca deste trabalho. Agradeço também por ter proporcionado o meu amadurecimento científico e intelectual durante este tempo que trabalhamos juntos.

Agradeço aos meus amigos Adolfo, Emmanuelle e Karen Mary, pelas inúmeras vezes que me incentivaram nos momentos de fraqueza, além de todos os momentos de descontração e felicidade que me proporcionaram. Agradeço especialmente à Karen Mary pela amizade e companheirismo em todas as disciplinas, relatórios e discussões científicas que ocorreram durante o curso de mestrado.

Aos meus atuais e antigos amigos do grupo de pesquisa: Francisco, Juliana, Lucas, Otávio, Patrícia e Santina, que sempre proporcionaram um agradável e prazeroso ambiente de trabalho, além das contribuições decorrentes das discussões exaustivas que proporcionaram o enriquecimento científico deste trabalho.

Agradeço a Prof^a. Dr^a. Tatiana Renata Gomes Simões, pelas contribuições no exame de qualificação.

Ao Prof. Dr. Flávio Massao Matsumoto por participar da avaliação no exame de qualificação e banca de defesa de mestrado, contribuindo de forma significativa para a conclusão deste trabalho.

A Prof^a. Dr^a. Karen Wohnrath por ter aceitado o convite para participar da banca de defesa desta dissertação.

Agradeço ao Prof. Dr. Fábio Souza Nunes pelo apoio ao nosso grupo de pesquisa durante a ausência do Prof. Dr. Márcio Peres de Araujo, em seu curso de pós-doutorado na Universidade de Ottawa, no Canadá.

A Prof^a. Dr^a. Shirley Nakagaki pela contribuição ímpar na minha formação durante o curso de mestrado, por meio das disciplinas de "Introdução ao Estudo da Catálise", "Química Bioinorgânica", "Prática de Docência em Química" e "Seminários B", além do respeito e admiração como docente e pesquisadora no Departamento de Química da UFPR.

Ao Prof. Dr. Davi Fernando Back pela elucidação da estrutura de Raios-X de monocristal.

A Prof^a.Dr^a. Lúcia Otero da *Universidad de la República Uruguay* pelas medidas de análise elementar de todos os compostos obtidos neste trabalho.

Ao Prof. Dr. Fabio Seigi Murakami e a aluna de mestrado Andressa, do Laboratório de Controle de Qualidade II, do Departamento de Farmácia da UFPR, pela parceria e acolhimento em seu laboratório e que possibilitou a realização dos testes biológicos.

Ao técnico Thiago José dos Santos pelos análises de Espectrometria de Massas (ESI-MS).

Agradeço também a todas as pessoas que estiveram envolvidas ou que contribuíram de alguma forma para o desenvolvimento deste trabalho.

Por fim, agradeço ao CNPq pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	vi
LISTA DE ESQUEMAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	xiv
LISTA DE LIGANTES.....	xv
RESUMO.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Compostos de coordenação como potenciais agentes antibacterianos.....	1
1.2 Aspectos gerais do óxido nítrico (NO).....	6
1.3 Ligantes <i>N</i> -heterocíclicos.....	10
1.4 Ligantes Fosfínicos.....	13
1.5 Justificativa do Trabalho.....	16
2. OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS.....	18
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
3.1 Reagentes Químicos e Instrumentação.....	19
3.1.1 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF).....	19
3.1.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	20
3.1.3 Análise Elementar.....	20
3.1.4 Espectroscopia Eletrônica na Região do UV-Vis.....	21
3.1.5 Análise por Espectrometria de Massas.....	21
3.1.6 Medidas de Condutividade Molar.....	21
3.1.7 Difração de Raios X de Monocristal.....	21
3.1.8 Cálculos Teóricos.....	22
3.2 Ensaios Antibacterianos.....	22
3.2.1 Preparação dos Compostos para os Ensaios Antibacterianos.....	22
3.2.2 Condições de Cultura e Método.....	23
3.2.3 Atividade Bacteriostática e Bactericida.....	25
3.3 Metodologia Experimental.....	25

3.3.1 Síntese do Complexo Precursor $[\text{RuCl}_3(\text{NO})(\text{OH}_2)_2]$ (A1).....	27
3.3.2 Síntese do Complexo Bifosfínico Precursor <i>fac</i> - $[\text{RuCl}_3(\text{NO})(\kappa^2\text{-P,P'-DPEphos})]$ (B1).....	27
3.4 Síntese da Série Catiónica com Fórmula Geral: <i>trans</i> (NO,OMe)- $[\text{RuCl}(\text{OMe})(\text{NO})(\kappa^2\text{-P,P'-DPEphos})(\text{L})]\text{PF}_6$ (L = py, 4-Mepy, 1-Meim e 1 <i>H</i> -Benzim).....	28
3.4.1 <i>trans</i> (NO,OMe)- $[\text{RuCl}(\text{OMe})(\text{NO})(\kappa^2\text{-P,P'-DPEphos})(\text{py})]\text{PF}_6$ (C1).....	29
3.4.2 <i>trans</i> (NO,OMe)- $[\text{RuCl}(\text{OMe})(\text{NO})(\kappa^2\text{-P,P'-DPEphos})(4\text{-Mepy})]\text{PF}_6$ (C2)	29
3.4.3 <i>trans</i> (NO,OMe)- $[\text{RuCl}(\text{OMe})(\text{NO})(\kappa^2\text{-P,P'-DPEphos})(1\text{-Meim})]\text{PF}_6$ (C3).....	29
3.4.4 <i>trans</i> (NO,OMe)- $[\text{RuCl}(\text{OMe})(\text{NO})(\kappa^2\text{-P,P'-DPEphos})(1\text{-H-benzim})]\text{PF}_6$ (C4).....	30
3.5 Reação de Oxidação do Ligante <i>bis</i> [2-(difenilfosfina)fenil]éter (DPEphos).....	31
3.6 Testes de Reatividade com dmso.....	31
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	32
4.1 Considerações Sobre a Rota Sintética Adotada.....	32
4.2 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF).....	33
4.3 Caracterização dos Complexos Bifosfínicos por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$	36
4.3.1 <i>fac</i> - $[\text{RuCl}_3(\text{NO})(\kappa^2\text{-P,P'-DPEphos})]$	37
4.3.2 Série <i>trans</i> (NO, OMe)- $[\text{RuCl}(\text{OMe})(\text{NO})(\kappa^2\text{-P,P'-DPEphos})(\text{L})]\text{PF}_6$ (L = py, 4-Mepy, 1-Meim e 1 <i>H</i> -Benzim).....	38
4.4 Caracterização dos Complexos Bifosfínicos por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e HMBC ($^1\text{H}\text{--}^{31}\text{P}$).....	41
4.5 Análise Elementar.....	48
4.6 Espectroscopia Eletrônica na Região do UV-Vis.....	49
4.7 Análise por Espectrometria de Massas.....	51
4.8 Medidas de Condutividade Molar.....	53
4.9 Difração de Raios X de Monocristal.....	54

4.10 Cálculos DFT para o complexo [RuCl ₃ (NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)].....	57
4.10.1 Otimização da Geometria.....	57
4.10.2 Orbitais Moleculares.....	61
4.11 Reação de Oxidação do Ligante <i>bis</i> [2-(difenilfosfina)fenil]éter (DPEphos).....	62
4.12 Testes de Reatividade com dmso.....	64
4.13 Ensaios Antibacterianos <i>in vitro</i>	70
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES.....	76
6. PERSPECTIVAS FUTURAS.....	78
7. REFERÊNCIAS.....	79
ANEXO 1.....	85

LISTA DE ABREVIATURAS

ATCC – *American Type Culture Collection*

bipy – 2,2'-bipiridina

COSY – *Correlation Spectroscopy*

Cp – ciclopentadienil

d – duplete

DFT – *Density Functional Theory* (Teoria do Funcional de Densidade)

dmso – dimetilsulfóxido

DNA – *Deoxyribonucleic acid* (Ácido desoxirribonucleico)

DPEphos – bis[2-(difenilfosfino)fenil]éter

dppb – 1,4-bis(difenilfosfina)butano

dppe – 1,2-bis(difenilfosfina)etano

dppp – 1,3-bis(difenilfosfina)propano

ESI-MS – *Electrospray Ionization Mass Spectrometry* (Espectrometria de Massa com Ionização por *electrospray*)

1H-Benzim – 1H-benzimidazol

HMBC – *Heteronuclear Multiple Bond Correlation* (Correlação Heteronuclear a Múltiplas Ligações)

HOMO – *Highest Occupied Molecular Orbital* (Orbital Molecular Ocupado de Maior Energia)

IL – Transição eletrônica Intraligante

IV-TF – Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier

LUMO – *Lowest Unoccupied Molecular Orbital* (Orbital Molecular Não-Ocupado de Menor Energia)

1-Meim – 1-metilimidazol

MeOH – metanol

4-Mepy – 4-metilpiridina

MH – Ágar Mueller-Hinton

MIC – *Minimum Inhibitory Concentration* (Concentração Mínima Inibitória)

MRSA – *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (*Staphylococcus aureus* metilicina-resistente)

OMe^- – ânion metóxi
OMS – Organização Mundial da Saúde
ORTEP – *Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot*
PE – Ponto de Ebulição
phen – 1,10-fenantrolina
PTBA – Perclorato de tetrabutil amônio
P–N = [*o*-(*N,N*-dimetilamino)fenil]difenilfosfina
P{*p*-tol}₃ – tri-*p*-toluifosfina
py – piridina
pyca – 2-carboxilatopiridina
RMN – Ressonância Magnética Nuclear
RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ – Ressonância Magnética Nuclear de Fósforo desacoplado de Hidrogênio
TCLM – Transferência de Carga Ligante-Metal
TDDFT – *Time Dependent Density Functional Theory* (Teoria do Funcional de Densidade Dependente do Tempo)
TCML – Transferência de Carga Metal-Ligante
terpy – 2,2':6'2"-terpiridina
TMS – Tetrametilsilano
TSA – *Trypticase Soy Agar*
TTC – cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio
UFC – Unidades Formadoras de Colônia
UV-Vis – Espectroscopia Eletrônica na Região UV-Vis
VRSA – *Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus* (*Staphylococcus aureus* vancomicina-resistente)
 ε – Absortividade Molar em $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$
 λ – Comprimento de onda em nm
 Λ_{m} – Condutividade Molar em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$
 $^x\text{J}_{yz}$ – Constante de acoplamento a x ligações entre os átomos y e z
 δ – Deslocamento químico em ppm
 ν – Número de onda em cm^{-1}
 κ^2 – Modo de coordenação bidentado do ligante DPEphos

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Reação de fotoisomerização do complexo <i>fac</i> -[RuCl ₃ (NO)(P-N)].....	10
Esquema 2: Complexos obtidos por Venkateswaran <i>et al.</i> , contendo ligante DPEphos a partir de (i) RuCl ₃ e Cp em etanol, (ii) [RuCl ₂ (<i>p</i> -cimeno)] ₂ em CH ₂ Cl ₂ , (iii) <i>cis</i> – [RuCl ₂ (dmsO) ₄] em CH ₂ Cl ₂ e (iv) [RuCl ₂ (<i>p</i> -cimeno)] ₂ em CH ₃ CN.....	16
Esquema 3: Rota sintética para a obtenção de todos os complexos apresentados neste trabalho.....	26
Esquema 4: Reação de fragmentação para o complexo B1	52
Esquema 5: Reação de formação do sal de Formazan a partir do cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC).....	70

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Micrografia de bactérias coradas com o corante violeta de metila, pelo método de Gram. Nesta figura, os bastonetes e os cocos que estão em roxo são Gram-positivos, e os vibriões em rosa, são Gram-negativos.....	1
Figura 2: Representação de uma bactéria Gram-positiva (esquerda) e de uma Gram-negativa (direita). As estruturas descritas em azul são encontradas somente em bactérias Gram-negativas e aquelas entre parentêses não são encontradas em todas as bactérias.....	2
Figura 3: Fórmula estrutural do 3,3'-diamino-4,4'-di-hidroxi-arsenobenzol, comercializado em 1910 com o nome de Salvarsan [®] , para o tratamento da sífilis.....	3
Figura 4: Fórmula estrutural da penicilina, elucidada pela Dr ^a . Dorothy Crowfoot Hodgkin.....	3
Figura 5: Fórmula estrutural do sulfadiazina de prata (I) utilizado contra cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5
Figura 6: Fórmula estrutural do complexo <i>trans</i> -[Ru(L ¹ H) ₂ (PPh ₃) ₂].....	5
Figura 7: Fórmula estrutural do complexo binuclear [{Ru(phen) ₂ } ₂ {μ-bb ₁₆ }] ⁴⁺	6
Figura 8: Representação do diagrama de orbitais moleculares para a molécula de NO.....	7
Figura 9: Forma representativa da ligação de valência na ligação M-NO envolvendo (a) NO ⁺ e (b) envolvendo NO ⁻	8
Figura 10: Orbitais moleculares envolvidos na interação $d_{\pi}-\pi^*$ entre o metal e o NO.....	8
Figura 11: Faixa para a frequência de estiramento da molécula de NO coordenada.....	9
Figura 12: Representação dos orbitais dos átomos de carbono e nitrogênio da piridina e o orbital sp^2 do nitrogênio, que contém o par de elétrons não compartilhados.....	11
Figura 13: Fórmulas estruturais para a série de complexos [RuCl ₄ (R-py) ₂] ⁻ , sintetizados por Webb <i>et al.</i> , utilizando ligantes derivados da piridina (1),	

em que (2) é a 4-metilpiridina, (3) 4-fenilpiridina, (4) 4-difenilmetilpiridina e (5) 4-(4-nitrobenzil)piridina.....	12
Figura 14: Representação da interação M-PR ₃ por meio dos orbitais <i>d</i> do metal e o orbital σ^* da fosfina, bem como o efeito da substituição do átomo ligado diretamente ao fósforo.....	14
Figura 15: Fórmula estrutural da Auranofina.....	15
Figura 16: Fórmula estrutural do (a) 1,1-bis(difenilfosfino)metano (dppm), (b) 1,2-bis(difenilfosfino)etano (dppe) e (c) 1,3-bis(difenilfosfino)propano (dppp).....	15
Figura 17: Comparação da turbidez entre a solução salina contendo os microorganismos e o padrão de BaSO ₄	23
Figura 18: Representação esquemática da placa de Elisa com capacidade para 96 poços, utilizada para os ensaios antibacterianos.....	24
Figura 19: Espectros vibracionais na região do infravermelho obtidos em pastilha de KBr dos complexos (a) A1 , (b) B1 , (c) C1 , (d) C2 , (e) C3 e (f) C4	34
Figura 20: Espectros vibracionais para os complexos (a) B1 , (b) C1 (c) C2 (d) C3 e (d) C4 , com ampliação na região entre 1700 – 2000 cm ⁻¹ em solução de CH ₂ Cl ₂	36
Figura 21: Espectro de RMN de ³¹ P{ ¹ H} para o ligante bifosfínico DPEphos livre (a) em solução de C ₆ H ₆ e (b) para o complexo precursor B1 em solução de CH ₂ Cl ₂	37
Figura 22: Espectros de RMN de ³¹ P{ ¹ H} dos complexos catiônicos em solução de CH ₂ Cl ₂ , onde (a) C1 , (b) C2 , (c) C3 e (d) C4	38
Figura 23: Ampliação dos sinais na região entre 5 e 20 ppm dos espectros de RMN de ³¹ P{ ¹ H} demonstrados na Figura 27, referentes aos complexos do tipo <i>trans</i> (NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(L)]PF ₆ em solução de CH ₂ Cl ₂ , onde (a) C1 , (b) C2 , (c) C3 e (d) C4	39
Figura 24: Proposta estrutural para a série de complexos catiônicos de fórmula geral <i>trans</i> (NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(L)]PF ₆ , com base no experimento de RMN de ³¹ P{ ¹ H} e complexos análogos encontrados na literatura.....	40
Figura 25: Estruturas propostas para a série de complexos catiônicos de	

fórmula geral $[\text{RuCl}(\text{OMe})(\text{NO})(\kappa^2\text{-P,P'-DPEphos})(\text{L})]\text{PF}_6$, com base no experimento de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$	41
Figura 26: Espectro de RMN de ^1H em CD_2Cl_2 para o complexo precursor B1 , obtido em um espectrômetro de 200 MHz (4,7 T).....	41
Figura 27: Espectro de RMN de ^1H em CD_2Cl_2 para o complexo C1 , obtido em um espectrômetro de 200 MHz (4,7 T).....	42
Figura 28: Espectro de RMN de ^1H em CD_2Cl_2 para o complexo C2 , obtido em um espectrômetro de 200 MHz (4,7 T).....	43
Figura 29: Espectro de RMN de ^1H em CD_2Cl_2 para o complexo C3 , obtido em um espectrômetro de 200 MHz (4,7 T)	44
Figura 30: Espectro de RMN de ^1H em CD_2Cl_2 para o complexo C4 , obtido em um espectrômetro de 200 MHz (4,7 T)	44
Figura 31: Espectros de RMN de ^1H para o complexo C2 em CD_2Cl_2 , obtidos em um espectrômetro de 400 MHz (9,4 T) com variação da temperatura.....	45
Figura 32: Espectro de RMN de ^1H para o complexo C2 em CD_2Cl_2 , obtido em um espectrômetro de 400 MHz (9,4 T) a 213K.....	46
Figura 33: Espectro de HMBC $^1\text{H}-^{31}\text{P}$ do complexo C2 em CD_2Cl_2 , obtido em um espectrômetro de 400 MHz (9,4 T).....	46
Figura 34: Correlações entre os átomos de fósforo do ligante DPEphos e os hidrogênios da 4-Mepy no complexo C2 , estabelecidas a partir do espectro de HMBC $^1\text{H}-^{31}\text{P}$	47
Figura 35: Espectro eletrônico na região do UV-Vis para o complexo B1 , em solução de CH_2Cl_2	49
Figura 36: Espectros eletrônicos na região do UV-Vis obtidos em solução de CH_2Cl_2 dos complexos (a) C1 , (b) C2 , (c) C3 e (d) C4	50
Figura 37: Espectro de massas em <i>full scan</i> para o complexo precursor B1	51
Figura 38: Representação ORTEP do complexo C1 , com elipsóides com probabilidade de 50%. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para melhor visualização.....	54
Figura 39: Geometrias otimizadas e energia relativa para os isômeros (a) <i>fac</i> - e (b) <i>mer</i> - $[\text{RuCl}_3(\text{NO})(\kappa^2\text{-P,P'-DPEphos})]$	58

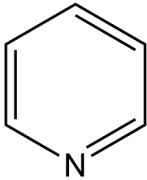
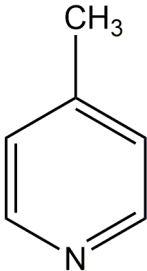
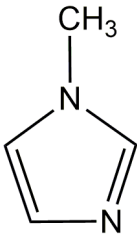
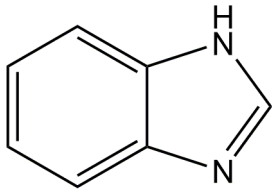
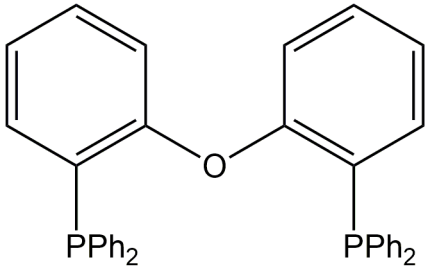
Figura 40: Representação da participação de alguns ligantes no orbitais moleculares do isômero <i>fac</i> -[RuCl ₃ (NO)(κ ² -P,P'-DPEphos)].....	61
Figura 41: Representação da participação de alguns ligantes no orbitais moleculares do isômero <i>mer</i> -[RuCl ₃ (NO)(κ ² -P,P'-DPEphos)].....	62
Figura 42: Os espectros de RMN de ³¹ P{ ¹ H} comparativos para o DPEphos na sua forma livre (a), após a reação com H ₂ O ₂ em CH ₂ Cl ₂ por 24 horas (b) e em (c), a estrutura proposta após esta reação.....	63
Figura 43: Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante DPEphos dioxidado em pastilha de KBr.....	63
Figura 44: Espectro de massas para o ligante DPEphos dioxidado.....	64
Figura 45: Espectros de RMN de ³¹ P{ ¹ H} do complexo bifosfínico precursor <i>fac</i> -[RuCl ₃ (NO)(κ ² -P,P'-DPEphos)], obtidos a partir da reatividade em dmso em diferentes tempos.....	65
Figura 46: Espectros de RMN de ³¹ P{ ¹ H} do complexo C1 , obtidos a partir da reatividade em dmso em diferentes tempos.....	65
Figura 47: Espectros de RMN de ³¹ P{ ¹ H} do complexo C2 , obtidos a partir da reatividade em dmso em diferentes tempos.....	66
Figura 48: Espectros de RMN de ³¹ P{ ¹ H} do complexo C3 , obtidos a partir da reatividade em dmso em diferentes tempos.....	66
Figura 49: Espectros de RMN de ³¹ P{ ¹ H} do complexo C4 , obtidos a partir da reatividade em dmso em diferentes tempos.....	67
Figura 50: Ampliação do espectro de RMN de ³¹ P{ ¹ H} para o complexo C1 , após 5 minutos de reação com dmso.....	68
Figura 51: Estruturas propostas para os complexos presentes em solução imediatamente após a adição de dmso, onde (a) é a espécie <i>trans</i> (NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ ² -P,P'-DPEphos)(<u>S</u> -dmso)]PF ₆ e (b) <i>trans</i> (NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(² -P,P'-DPEphos)(py)]PF ₆	68
Figura 52: Espectro de RMN de ¹ H para o complexo C1 , após 5 minutos de reação com dmso.....	69
Figura 53: Nas imagens (a) e (b), estão demonstradas as placas de Elisa para os ensaios antibacterianos utilizando cepas de bactérias de <i>S. aureus</i> (ATCC 25932), para os complexos (B1 , C1 a C4 a G5) e para os ligantes (L1 a L5), respectivamente, em (c) e (d), as cepas de <i>E. coli</i>	

(ATCC 25922) e em (e) e (f), as cepas de <i>E. faecalis</i> (ATCC 29212).....	71
Figura 54: Gráficos de MIC ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) pela variação de tempo para os complexos G1 a G5	73
Figura 55: Ensaio para a determinação da atividade bactericida ou bacteriostática dos complexos estudados.....	74
Figura 56: Diagrama de Tanabe-Sugano para a configuração d^6	85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores de IC ₅₀ para a linhagem MDA-MB-231, obtidos para a série de complexos <i>cis</i> -[RuCl ₂ (NO)(dppp)(L)]PF ₆ , ligantes livres e o cisplatina.....	13
Tabela 2: Valores do estiramento $\nu(\text{NO})$ para os complexos sintetizados, em pastilha de KBr e em solução de CH ₂ Cl ₂	33
Tabela 3: Atribuições tentativas para os espectros de IV-TF.....	35
Tabela 4: Valores de deslocamentos químicos e constantes de acoplamento para complexos do tipo <i>trans</i> (NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(L)]PF ₆	39
Tabela 5: Percentual de carbono, hidrogênio e nitrogênio para os complexos bifosfínicos.....	48
Tabela 6: Valores de absorvidade molar (ϵ) para todos os complexos sintetizados neste trabalho.....	50
Tabela 7: Valores obtidos para a condutividade molar.....	53
Tabela 8: Dados cristalográficos e de refinamento estrutural para o complexo C1	55
Tabela 9: Valores das principais distâncias e ângulos de ligação para o complexo C1	56
Tabela 10: Distâncias de ligação para os isômeros <i>fac</i> - e <i>mer</i> -[RuCl ₃ (NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)].....	58
Tabela 11: Ângulos de ligação para os isômeros <i>fac</i> - e <i>mer</i> -[RuCl ₃ (NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)].....	59
Tabela 12: Valores de MIC ($\mu\text{g/mL}$) obtidos <i>in vitro</i> utilizando cepas de bactérias Gram-positivas.....	72

LISTA DE LIGANTES

LIGANTE	PROPRIEDADES
 Piridina (py)	Estado físico: líquido Massa molar: 79,10 g·mol ⁻¹ Densidade: 0,9819 g·mL ⁻¹
 4-metilpiridina (4-Mepy)	Estado físico: líquido Massa molar: 93,13 g·mol ⁻¹ Densidade: 0,957 g·mL ⁻¹
 1-metilimidazol (1-Meim)	Estado físico: líquido Massa molar: 82,10 g·mol ⁻¹ Densidade: 1,03 g·mL ⁻¹
 1H-benzimidazol (1H-Benzim)	Estado físico: sólido Massa molar: 118,14 g·mol ⁻¹
 <i>bis</i> [2-(difenilfosfina)fenil]éter (DPEphos)	Estado físico: sólido Massa molar: 538,55 g·mol ⁻¹

RESUMO

Neste trabalho foram sintetizados complexos nitrosilados de rutênio (II) contendo o ligante bifosfínico Bis[2-(difenilfosfina)fenil]éter (DPEphos). O complexo precursor *fac*-[RuCl₃(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)] foi obtido a partir da reação entre o [RuCl₃(NO)(OH₂)] e o DPEphos, que posteriormente teve sua reatividade avaliada frente a ligantes imínicos *N*-heterocíclicos, tais como a piridina (py), 4-metilpiridina (4-Mepy), 1-metilimidazol (1-Meim) e 1*H*-benzimidazol (1*H*-benzim). Deste modo, foi obtida uma série de complexos catiônicos do tipo rutênio(II)-metóxido, com a seguinte fórmula molecular geral {*trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(L)]PF₆}, onde **L** são os ligantes *N*-doadores citados anteriormente. Todos os complexos bifosfínicos preparados foram caracterizados utilizando as técnicas de Espectroscopia Vibracional da Região do Infravermelho (IV-TF), RMN de ³¹P{¹H} e de ¹H, Espectroscopia Eletrônica na Região UV-Vis, Análise Elementar e Condutividade Molar. Cálculos DFT para o *fac*-[RuCl₃(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)], visando a otimização da geometria e obtenção dos orbitais moleculares. A presença do ligante metóxido nos complexos da série catiônica, bem como o modo de coordenação bidentado do DPEphos, foram comprovados pela Difractometria de Raios X de monocristal do complexo *cis*-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(py)]PF₆ (**C1**). A reatividade dos complexos catiônicos foi monitorado por RMN (³¹P{¹H} e de ¹H). Estudos envolvendo a reação de oxidação do ligante DPEphos foram realizados com o objetivo de desvendar a espécie detectada em 25,0 ppm no espectro de RMN de ³¹P{¹H} durante a reação dos complexos em dmso. Por fim, foi avaliada a potencialidade antibacteriana *in vitro* dos complexos frente às cepas de bactérias de *E. coli* (ATCC 25922), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *S. aureus* (ATCC 25932), *S. epidermidis* (ATCC 12228) e *E. faecalis* (ATCC 29212), utilizando o método da concentração mínima inibitória (MIC). O melhor valor de MIC obtido foi de 4,0 µg·mL⁻¹ para o *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(1-Meim)]PF₆ (**C3**), contra *S. aureus*, após 24 e 48 horas.

Palavras-chave: rutênio, ligante bifosfínico, ligantes *N*-heterocíclicos, reatividade, atividade antibacteriana.

ABSTRACT

In this work nitrosyl ruthenium (II) complexes with diphosphine ligand *bis*[2-(*diphenylphosphino*)phenyl]ether (DPEphos) were synthesized. The precursor complex *fac*-[RuCl₃(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)] was obtained from the reaction between [RuCl₃(NO)(OH₂)] and DPEphos, subsequently its reactivity with *N*-heterocyclic ligands such as pyridine (py), 4-methylpyridine (4-Mepy), 1-methylimidazole (1-Meim) and 1*H*-benzimidazole (1*H*-Benzim) was evaluated in methanol. Thus, cationic complexes of methoxide-ruthenium (II) with the general molecular formula *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(L)]PF₆, where **L** is the *N*-donor ligands mentioned above were obtained. All diphosphine-containing compounds were characterized by infrared vibrational spectroscopy (FTIR), NMR (³¹P{¹H}, ¹H), UV-Vis absorption spectroscopy, Elemental Analysis and Molar Conductivity. DFT Calculations of the *fac*-[RuCl₃(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)] in order to optimize the geometry and obtaining the molecular orbitals. The presence of methoxide ligand in the cationic complex series, as well as the mode of coordination of bidentate DPEphos were confirmed by single-crystal X-ray diffraction of the complex *cis*-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(py)]PF₆ (**C1**). The reactivity of the cationic complexes with dmso was monitored by NMR (³¹P{¹H}, ¹H). Studies involving the oxidation of the DPEphos ligand were performed in order to unravel the species observed at 25.0 ppm in the ³¹P{¹H} NMR spectrum, during the reaction of the complexes in dmso. Finally, we evaluated the *in vitro* potential antibacterial of the complexes against the strains of bacteria *E. coli* (ATCC 25922), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *S. aureus* (ATCC 25932), *S. epidermidis* (ATCC 12228) and *E. faecalis* (ATCC 29212) using the method of Minimum Inhibitory Concentration (MIC). The best value of MIC was 4.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ for the *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(1-Meim)]PF₆ (**C3**) against *S. aureus*, after 24 and 48 hours.

Key words: ruthenium, diphosphine ligand, *N*-heterocyclic ligands, reactivity, antibacterial activity.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Compostos de coordenação como potenciais agentes antibacterianos

As bactérias (do latim, singular: *bacterium*), pertencem ao Reino Monera e são organismos relativamente simples, unicelulares, procariontes e que surgiram na Terra há bilhões de anos. Historicamente, estes microorganismos foram observados pela primeira vez em 1673, pelo cientista e mercador holandês Anton Van Leeuwenhoek, por meio de lentes de aumento de mais de 400 microscópios, fabricados pelo próprio cientista. Os "animálculos", assim chamados por ele, foram observados a partir da água da chuva, das fezes do próprio Van Leeuwenhoek e de um material obtido a partir da raspagem de seus dentes.^[1]

Assim, são encontradas na natureza uma imensa variabilidade de bactérias, que podem ser diferenciadas ao analisarmos os aspectos microscópicos destes microorganismos, tais como tamanho, morfologia (cocos e bastonetes, por exemplo) e capacidade de reter corantes. Este último aspecto pode ser resumidamente descrito como um método colorimétrico, conhecido como método de Gram, desenvolvido por Hans Christian Gram em 1884, e baseia-se na acumulação de corantes para a diferenciação da parede celular, como por exemplo, o violeta de metila.^[2]

Quando vistos com o auxílio de um microscópio, estes microorganismos podem ser divididos, em duas classes, as Gram-positivas e as Gram-negativas, como pode ser visto na figura abaixo (Figura 1):^[1, 2]

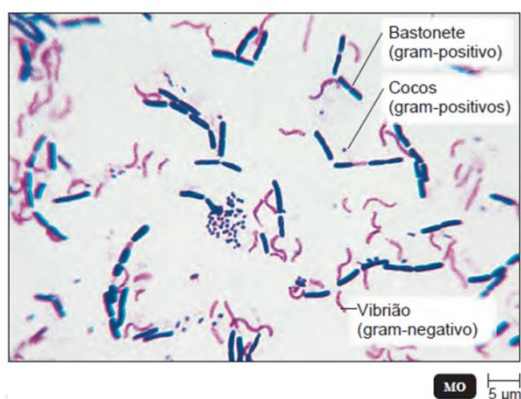


Figura 1: Micrografia de bactérias coradas com o corante violeta de metila, pelo método de Gram. Nesta figura, os bastonetes e os cocos que estão em roxo são Gram-positivos, e os vibriões em rosa, são Gram-negativos.^[1]

Basicamente, a distinção entre estas duas classes está na constituição da parede celular do microorganismo, isto é, as bactérias Gram-negativas possuem em sua membrana uma camada externa de lipopolissacarídeos, ao passo que as Gram-positivas não possuem, como pode ser visto na Figura 2.^[2, 3]

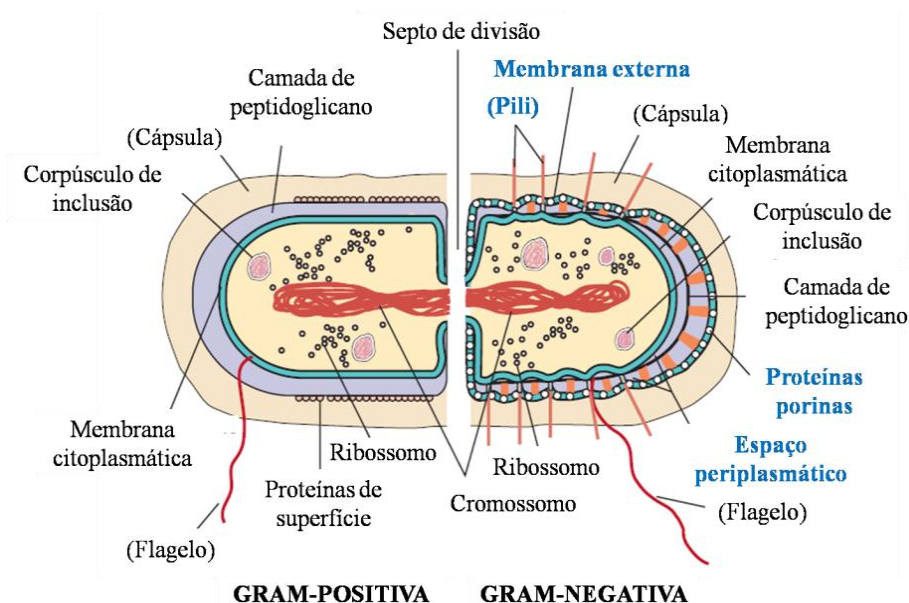


Figura 2: Representação de uma bactéria Gram-positiva (esquerda) e de uma Gram-negativa (direita). As estruturas descritas em azul são encontradas somente em bactérias Gram-negativas e aquelas entre parentêses não são encontradas em todas as bactérias.^[2]

A partir do século XIX, as bactérias despertaram o interesse de diversos cientistas, de forma que estudos para o entendimento minucioso acerca da estrutura celular e atividade biológica desta classe de microorganismos, contribuíram para o desenvolvimento da ciência e bem estar da sociedade. Dentre as principais contribuições, podemos citar o processo de Pasteurização, desenvolvido por Louis Pasteur em 1859, ainda utilizado nas indústrias de laticínio, que tem por objetivo eliminar microorganismos patogênicos e prolongar a qualidade e conservação do leite.^[1,2]

No entanto, somente em 1910 o uso de substâncias químicas, atualmente conhecidas como antibióticos, é apontado como uma forma de evitar ou interferir na proliferação de microorganismos, em concentrações que fossem toleráveis ao hospedeiro. Esta contribuição significativa para o avanço da medicina ocorreu graças ao primeiro antibiótico sintético, produzido pelo pesquisador Paul Ehrlich, à base de arsênio (Figura 3), comercializado com o

nome de Salvarsan[®] e utilizado contra a sífilis, doença sexualmente transmissível causada pela bactéria *Treponema pallidum*.^[3, 4]

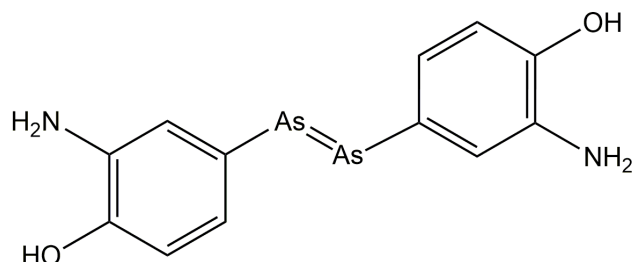


Figura 3: Fórmula estrutural do 3,3'-diamino-4,4'-di-hidroxi-arsenobenzol, comercializado em 1910 com o nome de Salvarsan[®], para o tratamento da sífilis.^[4]

Em 1928, o médico e bacteriologista escocês Alexander Fleming, descobriu acidentalmente que o fungo *Penicillium chrysogenum* era capaz de inibir o crescimento de uma colônia de bactérias *Staphylococcus aureus*. A penicilina, assim chamada, é o primeiro antibiótico a ser produzido de forma biosintética, foi isolada pela primeira vez em 1942 por Ernst Chain, em Oxford na Inglaterra. Na Figura 4 está representada a estrutura da penicilina, elucidada somente em 1944, pela pesquisadora Dr^a. Dorothy Crowfoot Hodgkin.^[1]

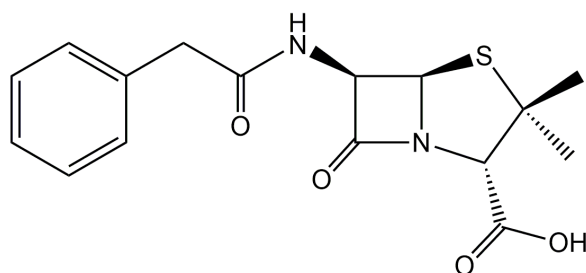


Figura 4: Fórmula estrutural da penicilina, elucidada pela Dr^a. Dorothy Crowfoot Hodgkin.

Tendo em vista que as bactérias eram causadoras de processos infecciosos, bem como a baixa eficácia do composto sintetizado por Ehrlich, as décadas de 1940 a 1960, foram marcadas pela busca de novas drogas. No entanto, as bactérias desenvolveram com o passar dos anos, mecanismos de resistência frente a antibióticos como uma estratégia de sobrevivência, como é o caso da *Staphylococcus aureus* metilicina-resistente (MRSA) e da *Staphylococcus aureus* vancomicina-resistente (VRSA), refletindo na utilidade

limitada de alguns antibióticos já existentes no mercado e desta forma uma nova motivação para o desenvolvimento de novos compostos mais eficientes.^[3]

Nesse sentido, a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou recentemente um relatório sobre as bactérias resistentes, tais como a *E.coli* e a *S. aureus*, frente a alguns fármacos, em 114 países. Neste documento, o órgão aponta que a resistência a antibióticos é uma ameaça global à saúde pública e que esforços devem ser concentrados na busca por antibióticos que sejam eficazes. Conforme o diretor geral assistente da OMS, Keiji Fukuda, se iniciativas em regime de urgência não forem tomadas, o mundo caminhará rumo a uma era pós-antibiótico, onde infecções comuns e ferimentos simples, que são tratáveis há décadas, poderão matar novamente.^[5]

Diante deste cenário, pesquisadores têm concentrado esforços para o desenvolvimento de compostos que possuam boa atividade antibacteriana, com o propósito de minimizar ou erradicar algumas doenças graves causadas por estes microorganismos.^[6]

Dentre os compostos de sucesso, podemos citar aqueles à base de bismuto, tais como o citrato de bismuto coloidal (De-nol[®]), subsalicilato de bismuto (Pepto-Bismol[®]) e citrato de bismuto ranitidina (Pylorid[®]), são conhecidos pelo sucesso na erradicação da bactéria Gram-negativa *Helicobacter pylori*, causadora de úlceras que afetam cerca de 80% da população em países subdesenvolvidos.^[7]

Na literatura, diversas estratégias para o desenvolvimento de complexos promissores vêm sendo apresentadas, como é o caso do complexo de prata(I) contendo o ligante sulfadiazina, que pertence à classe das sulfonamidas, que são utilizadas desde 1935, como antibióticos para pacientes com queimadura. Tendo em vista esta preciosa propriedade, Chopra relatou que a combinação das propriedades do íon prata e da sulfadiazina, levaram a um complexo (Figura 5) com atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, atuando principalmente contra *Pseudomonas aeruginosa*, que é a principal responsável pelas infecções causadas em queimaduras.^[8]

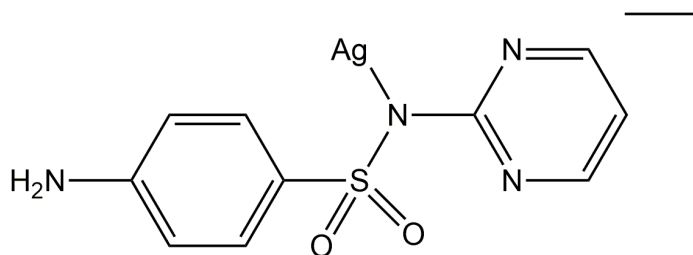


Figura 5: Fórmula estrutural do sulfadiazina de prata (I) utilizado contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

No que diz respeito aos complexos de rutênio, que são estudados como agentes antibacterianos, podemos citar o trabalho publicado por Sengupta *et al.*, onde os pesquisadores reportam a síntese de um complexo de rutênio(II) com o ligante ácido piridina-2,3-dicarboxílico (L^1H), o *trans*- $[Ru(L^1H)_2(PPh_3)_2]$ (Figura 6).^[10]

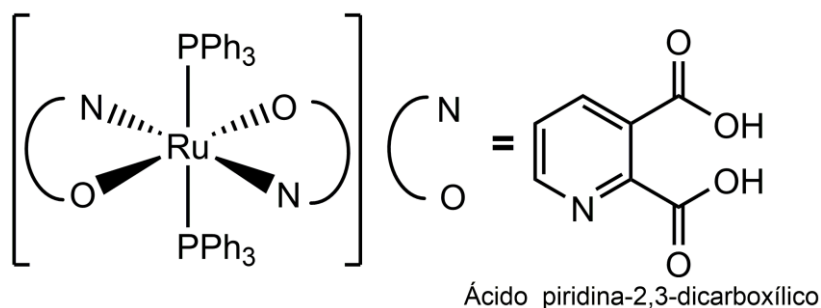


Figura 6: Fórmula estrutural do complexo *trans*- $[Ru(L^1H)_2(PPh_3)_2]$.^[10]

Os autores avaliaram a potencialidade do complexo *in vitro* utilizando o ensaio da concentração mínima inibitória (MIC, do inglês, *minimum inhibitory concentration*), o qual representa a concentração de um antimicrobiano que inibe/impede o crescimento de um microrganismo. Para este complexo o MIC obtido foi de de $20 \mu L \cdot mg^{-1}$, frente à cepas de *E.coli* (ATCC 10536), onde os testes foram realizados utilizando uma mistura de solventes (etanol/dmsO 1:1 v/v). Neste trabalho, os pesquisadores não comparam os valores de MIC obtidos com um antibiótico padrão.^[1, 9]

Recentemente, Pandrala *et al.* relataram o uso de diversos complexos binucleares de rutênio (II) contendo ligantes *N*-doadores, com destaque para o complexo $[Ru(phen)_2\{\mu-bb_{16}\}]^{4+}$, onde *phen* = 1,10-fenantrolina e *bb*₁₆ =

bis[4(4'metil-2,2'-bipiridil)]hexadecano, representado na figura abaixo (Figura 7).^[10]

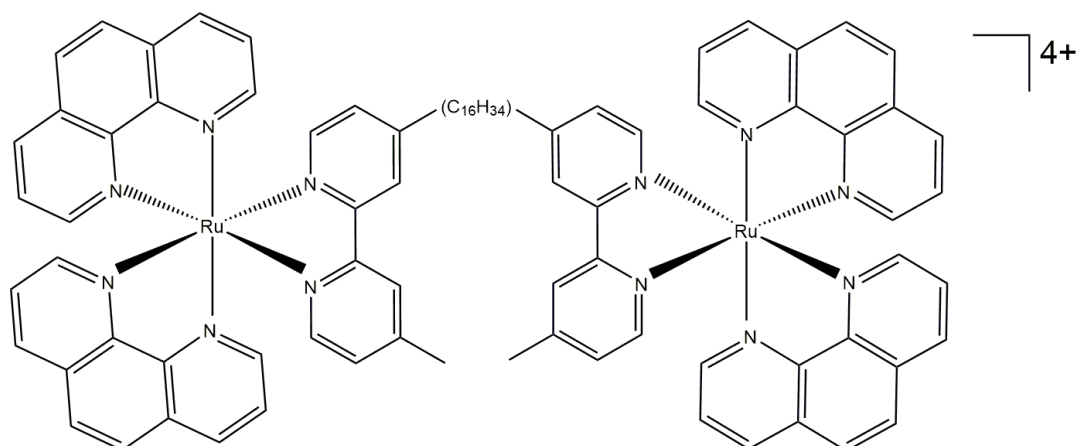


Figura 7: Fórmula estrutural do complexo binuclear $[\{Ru(phen)_2\}_2\{\mu-bb_{16}\}]^{4+}$.^[10]

Para este complexo, o valor de MIC obtido *in vitro* utilizando cepas da bactéria Gram-positiva *S. aureus* (ATCC 25923) foi de $1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, ao passo que para as bactérias Gram-negativas, *E. coli* (ATCC 25922) e *P. aeruginosa* (ATCC 2783), este valor foi de 2 e $16 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectivamente. Estes resultados sugerem que complexos de Ru^{II} contendo ligantes *N*-doadores, podem ser potenciais agentes antibacterianos.^[10]

1.2 Aspectos gerais do óxido nítrico (NO)

O óxido nítrico (NO) é uma molécula paramagnética, encontrado na forma de gás com PE igual a $-151,7^\circ\text{C}$ e incolor. Porém, este gás pode apresentar diagnetismo nos estados sólido e líquido, pois ocorre a sua dimerização formando espécies simétricas do tipo (O-N-N-O).^[11]

O comprimento da ligação N-O é 115 pm e a ordem de ligação é 2,5, como pode ser calculado com o auxílio do diagrama de energia de orbitais moleculares, representado na Figura 8 a seguir.^[12]

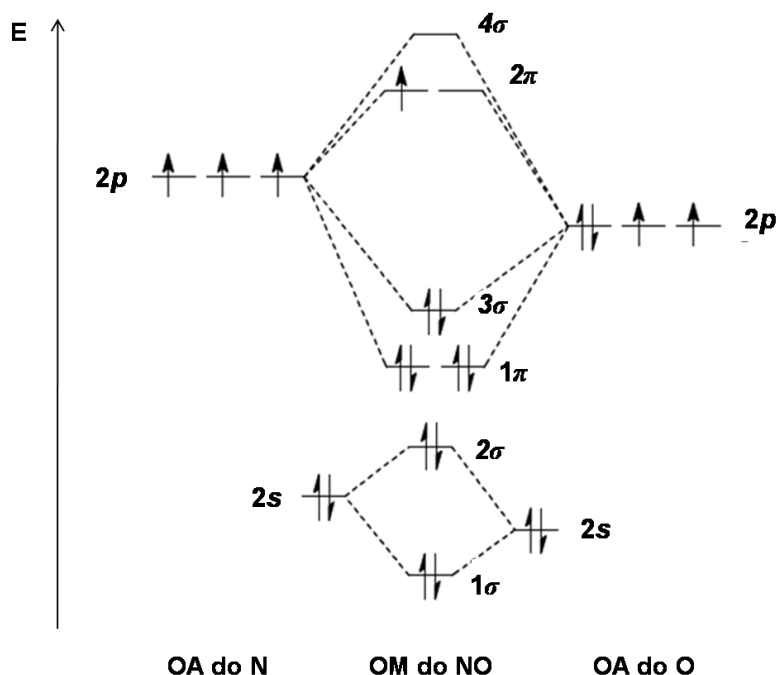


Figura 8: Representação do diagrama de orbitais moleculares para a molécula de NO.^[12]

Além disso, o NO pode atuar como uma base de Lewis e formar compostos de coordenação com diversos metais de transição, de modo que a coordenação deste ligante ocorre via nitrogênio (M-N-O), envolvendo uma ou duas unidades NO, como é o caso do cátion nitrosil (NO^+), que também pode formar uma infinidade de complexos com diversos metais de transição, onde a coordenação deste íon ocorre via nitrogênio, formando nitrosilos (M-NO) complexos.^[12-14]

Adicionalmente, a coordenação deste ligante pode implicar na variação da sua geometria, que pode ser linear ou angular, e que proporciona diferentes propriedades da ligação M-NO. A ligação é preferencialmente linear quando é observada uma configuração equivalente a NO^+ , com hibridização sp do átomo de N, em que os orbitais π^* são susceptíveis a receber densidade eletrônica do metal (Figura 9a), da mesma forma que é capaz de doar densidade eletrônica, por meio da ligação σ , para o centro metálico, compondo então o efeito sinérgico da ligação M-NO. No caso da ligação angular, a coordenação ocorre quando o centro metálico é rico em elétrons, de modo que o NO tem sua densidade eletrônica aumentada nos orbitais π^* , comportando-se formalmente como NO^- ou NO^0 , com hibridização sp^2 no átomo de N (Figura 9b) ^[12, 14]. Na

figura abaixo (Figura 9), há a representação da formação da ligação M-NO, segundo a teoria da ligação de valência, juntamente com as formas de ressonância para as geometrias linear e angular:

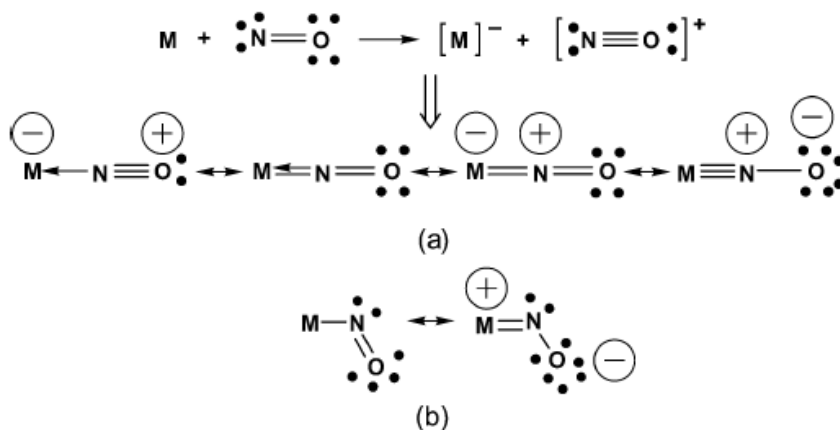


Figura 9: Forma representativa da ligação de valência na ligação M-NO envolvendo (a) NO^{+} e (b) envolvendo NO^{-} .^[12]

Desta forma, a ligação M-NO é considerada como tendo duas componentes. A primeira envolve a doação eletrônica do orbital σ do átomo de N (3σ do OM da Figura 8) para o metal, e a segunda envolve a retroligação de densidade eletrônica dos orbitais d_{π} (d_{xy} , d_{xz} e d_{yz}) do metal para os orbitais π^{*} do NO, resultando em uma interação do tipo $d_{\pi}-\pi^{*}$, como está representada na figura a seguir (Figura 10):^[14]

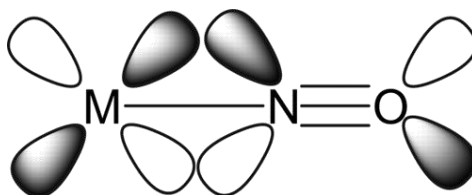


Figura 10: Orbitais moleculares envolvidos na interação $d_{\pi}-\pi^{*}$ entre o metal e o NO.^[14]

No que diz respeito ao comprimento da ligação M-N, a forma linear é caracterizada por comprimentos de ligação curtos, com valores que variam de 160 – 175 pm, de modo que ao analisarmos o seu comportamento frente à interação com radiação infravermelha, a frequência de vibração do estiramento $\nu(\text{NO})$ ocorre na faixa entre 1650 e 1985 cm^{-1} . Contudo, na forma angular, os maiores comprimentos da ligação M-N (entre 180–195 pm), resultam em

menores frequências vibracionais do NO (1525-1590 cm^{-1}), conforme a Figura 11.^[14]

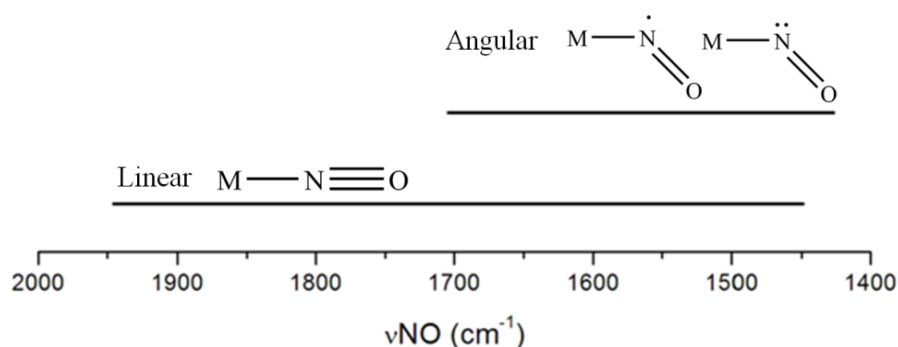


Figura 11: Faixa para a frequência de estiramento da molécula de NO coordenada.^[14]

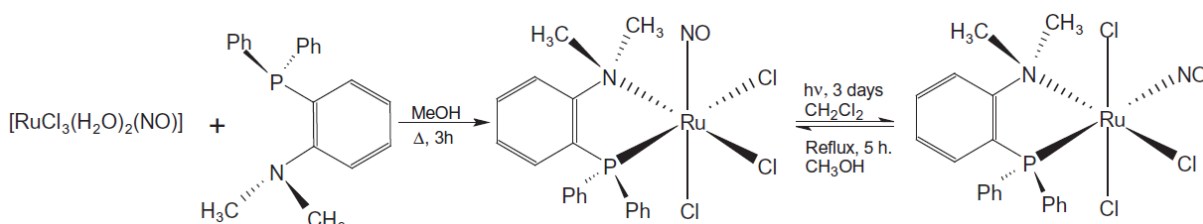
É interessante ressaltar que a atribuição da geometria da ligação M-NO, pode ser equivocada ao analisar apenas a posição da banda referente ao estiramento $\nu(\text{NO})$ no espectro de infravermelho, uma vez que a faixa aceita tanto para a geometria linear quanto para a angular é extensa, como pode ser visto na Figura 11. Nesse sentido, deve-se observar, além da $\nu(\text{NO})$, a posição do centro metálico na tabela periódica, carga do complexo e os ligantes auxiliares que compõem a esfera de coordenação do metal.^[14]

No que diz respeito a complexos nitrosilos envolvendo rutênio, um dos primeiros a ser estudado é o *cis*-[RuCl(NO)(bipy)₂]²⁺ (bipy = 2,2'-bipiridina), relatado em 1977 por Callahan e Meyer, em seus estudos fotoquímicos para a liberação de NO⁰ em solução de CH₃CN, com posterior geração do íon complexo [RuCl(bipy)₂(CH₃CN)]²⁺. Desta forma, muitos grupos de pesquisa vêm concentrando esforços na síntese de complexos nitrosilados de rutênio e que possuam aplicação, como é o caso dos íons complexos *trans* – [Ru(NO)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺ e *trans* – [Ru(NO)(NH₃)₄(py)]³⁺, que em ensaios biológicos, apresentaram efeito de 100% de vasodilatação em veias aorta de ratos após 120 minutos de aplicação.^[15, 16]

Em nosso grupo de pesquisa, um dos objetivos é a síntese de novos complexos nitrosilos de rutênio (II), cuja aplicação está centrada em testes de atividade antitumoral e antibacteriana. Nesse sentido, o interesse pela rica química destes compostos teve início com o trabalho de Cavarzan *et al.*, com a síntese do primeiro complexo publicado na literatura contendo RuCl₃NO e o

ligante do tipo P–N, [*o*-(*N,N*-dimetilamino)fenil]difenilfosfina, utilizando diversas ferramentas de caracterização, tais como a RMN de ^1H e de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$.^[17]

Ainda em nosso grupo, Silva *et al.*, utilizaram o complexo mencionado anteriormente em estudos de fotoisomerização de complexos do tipo *fac*–/*mer*– $[\text{RuCl}_3(\text{NO})(\text{P-N})]$ (P–N= [*o*-(*N,N*-dimetilamino)fenil]difenilfosfina), como pode ser visto no esquema abaixo (Esquema 1):



Esquema 1: Reação de fotoisomerização do complexo *fac*– $[\text{RuCl}_3(\text{NO})(\text{P-N})]$.^[18]

O objetivo principal deste trabalho é contribuir para a química desta classe de compostos, com o auxílio de ferramentas espectroscópicas e o cálculo teórico (DFT), que permitem a elucidação estrutural e estudo das propriedades eletrônicas de complexos contendo NO^+ e ligantes fosfínicos em sua estrutura.^[18]

1.3 Ligantes *N*-heterocíclicos

Os ligantes *N*-heterocíclicos, mais especificamente, as aminas heterocíclicas, são compostos nos quais um ou mais átomos de nitrogênio fazem parte de um anel, como por exemplo, a piridina (py) e o 1*H*-imidazol (1*H*-im). A py é um análogo heterocíclico do benzeno, que contém um átomo de nitrogênio em sua estrutura levemente distorcida devido à presença deste heteroátomo, além de ser aromática, com ângulos de 120° e comprimentos de ligação C–C de 139 pm, na qual os átomos de carbono e nitrogênio possuem hibridização sp^2 . Além disso, o átomo de nitrogênio possui um par de elétrons isolado ou não compartilhado (Figura 12) e que confere a esta classe de compostos algumas propriedades, tais como a capacidade de atuarem como bases de Lewis e serem utilizados como ligantes na química de coordenação.^[19, 20]

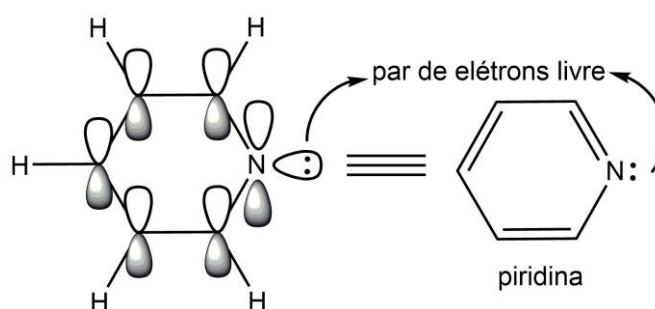


Figura 12: Representação dos orbitais dos átomos de carbono e nitrogênio da piridina e o orbital sp^2 do nitrogênio, que contém o par de elétrons não compartilhados.^[20]

No entanto, as aminas heterocíclicas aromáticas podem conter cinco, seis ou mais membros em sua estrutura, como é o caso do 1*H*-imidazol, que contém cinco membros e de algumas aminas policíclicas, como a adenina (constituente do DNA) e o 1*H*-benzimidazol.

Adicionalmente, estes compostos possuem algumas propriedades interessantes, tais como a basicidade e fatores estéricos.^[21] Desta forma, quando comparamos uma alquilamina, como exemplo, a etanoamina (ácido conjugado, $pK_a = 10,77$) com a piridina (ácido conjugado, $pK_a = 5,25$), concluímos que esta última é uma base mais fraca, não somente pela diferença no valor de pK_a , mas também pela contribuição do par de elétrons não compartilhado. Na piridina, o par de elétrons está em um orbital sp^2 , que possui caráter s de 33%, ou seja, este par de elétrons é mantido mais próximo ao núcleo carregado positivamente, tornando-os menos disponíveis para ligação, ao passo que na alquilamina, o par de elétrons está em um orbital sp^3 com caráter s igual a 25%, ou seja, mais disponíveis para realizar uma ligação química.^[19]

À luz destas informações, a piridina e outros compostos *N*-heterocíclicos são comumente empregados como ligantes na química de coordenação, pois são consideradas adequadas à retroligação, uma vez que possuem orbitais vazios e assim como citado anteriormente, um par de elétrons disponível que é capaz de formar ligação σ forte, permitindo a estabilização de íons metálicos com baixo estado de oxidação.^[22]

Dentre os diversos complexos contendo estes ligantes, aqueles que contêm rutênio (II)/(III), vêm sendo extensivamente estudados e difundidos na

literatura, dentre os quais podemos destacar o trabalho pioneiro de Taube *et al.*, com a síntese e reatividade de alguns complexos do tipo $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{py})]^{2+}$.^[23]

Recentemente, Webb *et al.*, avaliaram a atividade anticâncer de complexos de Ru^{III} análogos ao KP1019, o qual apresenta-se em fase clínica, com a substituição dos dois ligantes 1*H*-indazol por outros ligantes *N*-doadores, como aqueles da Figura 13. Este estudo foi realizado com o intuito de confrontar a potencialidade entre os complexos preparados pelos autores e o KP1019, de modo que eles também apresentaram atividade antitumoral promissora.^[24]

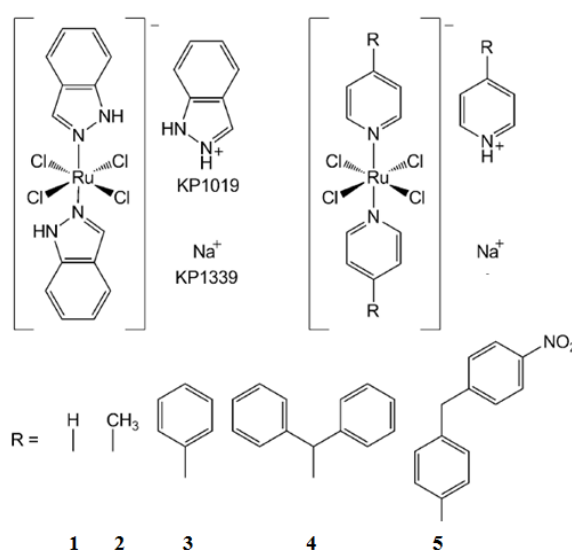


Figura 13: Fórmulas estruturais para a série de complexos $[\text{RuCl}_4(\text{R-py})_2]^-$, sintetizados por Webb *et al.*, utilizando ligantes derivados da piridina (1), em que (2) é a 4-metilpiridina, (3) 4-fenilpiridina, (4) 4-difenilmetilpiridina e (5) 4-(4-nitrobenzil)piridina.^[24]

Além dos complexos salientados anteriormente, na literatura são encontrados complexos de Ru^{II} similares aos que são preparados neste trabalho, como é o caso daqueles relatados por Golfeto *et al.*, que são catiônicos e do tipo *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{NO})(\text{dppp})(\text{L})]\text{PF}_6$; onde, dppp = 1,3-bis(difenilfosfino)propano e **L** = piridina (py), 4-metilpiridina (4-Mepy) e 4-fenilpiridina (4-Phpy). Estes complexos apresentaram atividade antitumoral promissora, quando foram comparados os valores de IC_{50} entre estes e o composto que é comumente utilizado no tratamento de câncer, o cisplatina *cis*- $[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$ para uma linhagem de células MDA-MB-231 (câncer de mama). Os resultados obtidos encontram-se reunidos na Tabela 1, a seguir:^[25]

Tabela 1: Valores de IC₅₀ para a linhagem MDA-MB-231, obtidos para a série de complexos *cis*-[RuCl₂(NO)(dppp)(L)]PF₆, ligantes livres e o cisplatina.^[25]

Complexo	IC₅₀ (μM)
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (NO)(dppp)(py)]PF ₆	19,0 ± 3,0
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (NO)(dppp)(4-Mepy)]PF ₆	7,4 ± 3,7
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (NO)(dppp)(4-Phpy)]PF ₆	7,1 ± 1,2
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (NO)(dppp)(dmsO)]PF ₆	12,1 ± 1,4
<i>fac</i> -[RuCl ₃ (NO)(dppp)(dppf)]	10,0 ± 3,0
RuCl ₃ (NO).2H ₂ O	>200
dppf	97,0 ± 8,0
dppp	>200
py	>200
4-Mepy	>200
4-Phpy	>200
cisplatina	63,0 ± 5,0

Podemos observar na Tabela 1 acima, que o complexo *cis*-[RuCl₂(NO)(dppp)(4-Phpy)]PF₆ apresentou o menor valor de IC₅₀ dentre todos os compostos apresentados, incluindo o cisplatina, indicando a potencialidade destes complexos para a atividade antitumoral.

1.4 Ligantes Fosfínicos

As fosfinas (PR₃) são ligantes neutros, que possuem um par de elétrons não compartilhado e que podem ser utilizados para formar uma ligação σ, ocasionando a estabilização de diferentes classes de complexos, incluindo aqueles que contêm metais de altos e baixos estados de oxidação. Nesse sentido, esta classe de ligantes é capaz receber densidade eletrônica do metal por meio da retroligação π, uma vez que o átomo de fósforo possui um orbital σ* vazio, que atua como receptor, como pode ser visto na Figura 14, a seguir:

[26]

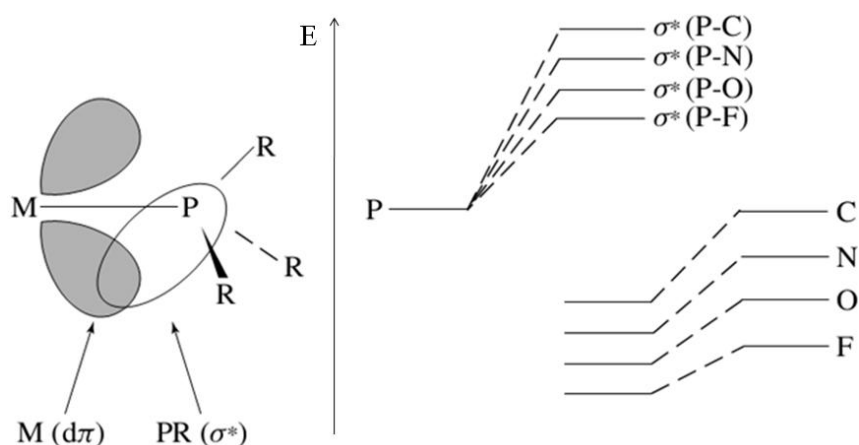


Figura 14: Representação da interação $M-PR_3$ por meio dos orbitais d do metal e o orbital σ^* da fosfina, bem como o efeito da substituição do átomo ligado diretamente ao fósforo.^[26]

Conforme a figura acima (Figura 14), a presença de substituintes retiradores de densidade eletrônica ($F > O > N > C$), promove a diminuição da capacidade de doação σ da fosfina, ao passo que a energia dos orbitais σ^* diminui, gerando o aumento da retroligação π do metal para o ligante.^[26]

Diante da versatilidade que os ligantes fosfínicos possuem, bem como a possibilidade de formar diversos complexos com rutênio, a química desta classe de compostos tem sido extensivamente explorada, juntamente com a utilização de ligantes contendo átomos doadores diferentes, tais como os ligantes N -heterocíclicos, que foram abordados na seção anterior. Neste aspecto, a utilização de ligantes bidentados contendo fósforo e nitrogênio como átomos doadores tem sido estudada e avaliada, onde o grande interesse nos complexos contendo estes ligantes, está focado na aplicação em catálise homogênea, especialmente em reações de hidrogenação.^[27]

Além disso, compostos de coordenação contendo ligantes fosfínicos podem ser utilizados como agentes terapêuticos, como por exemplo, o complexo [(2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio- β -D-glucopiranosato)](trietilfosfina)ouro (I), comercialmente conhecido como Auranofina - Ridaura[®] (Figura 15), utilizado desde 1985 para o tratamento de artrite reumatóide.^[28]

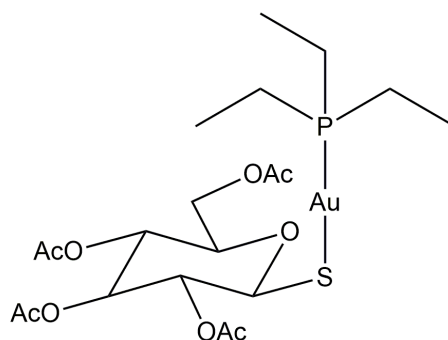


Figura 15: Fórmula estrutural da Auranofina.^[28]

Dentre os diversos ligantes fosfínicos existentes, podemos citar aqueles que são bidentados, como é o caso do 1,1-bis(difenilfosfino)metano (**dppm**), 1,2-bis(difenilfosfino)etano (**dppe**), 1,3-bis(difenilfosfino)propano (**dppp**), cujas estruturas estão representadas na Figura 16. Estes compostos diferem-se entre si basicamente pelo tamanho da cadeia carbônica que une os dois átomos de fósforo, e pelo número de membros que farão parte do anel quelato, quando estas bifosfinas atuam como bases de Lewis com diferentes centros metálicos.^[29,30]

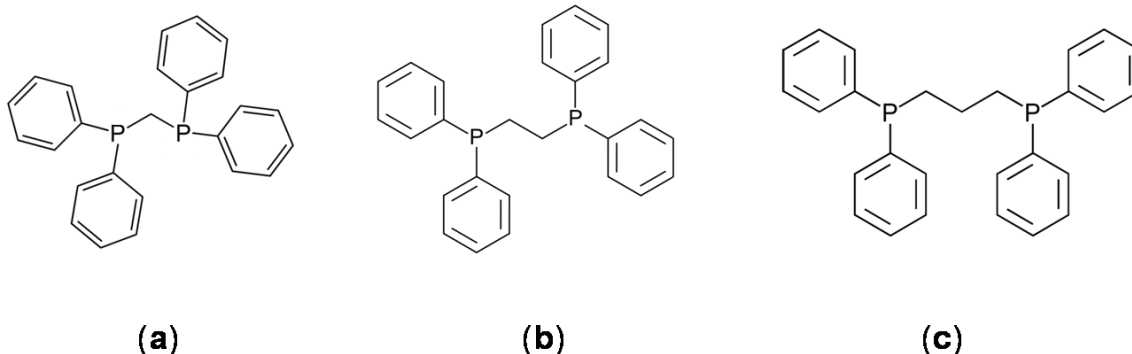
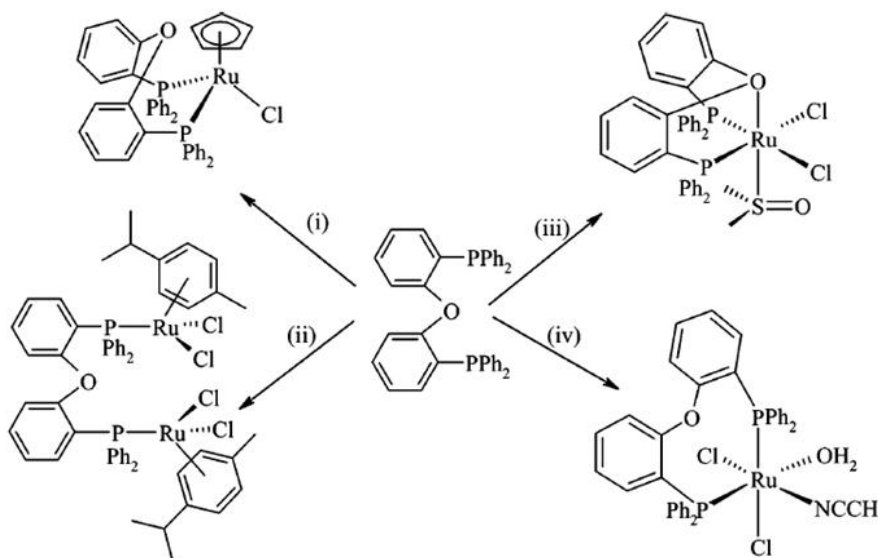


Figura 16: Fórmula estrutural do (a) 1,1-bis(difenilfosfino)metano (**dppm**), (b) 1,2-bis(difenilfosfino)etano (**dppe**) e (c) 1,3-bis(difenilfosfino)propano (**dppp**).

No entanto, o ligante bifosfínico *bis*(2-(difenilfosfino)fenil)éter (DPEphos) (Esquema 2) é conhecido por apresentar hemilabilidade, isto é, devido à presença de diferentes átomos com propriedades diferentes, tais como a acidez/basicidade de Pearson, e que confere a este ligante versatilidade ímpar quando comparada com bifosfinas que contém como átomos doadores apenas o fósforo, como aquelas apresentadas na Figura 16. Tendo em vista esta propriedade, Venkateswaran *et al.*, demonstram em seu trabalho que a

coordenação do DPEphos pode ocorrer de forma bi- ou tridentada, conforme o Esquema 2:^[31]



Esquema 2: Complexos obtidos por Venkateswaran *et al.*, contendo ligante DPEphos a partir de (i) RuCl_3 e Cp em etanol, (ii) $[\text{RuCl}_2(p\text{-cimeno})]_2$ em CH_2Cl_2 , (iii) *cis* - $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_4]$ em CH_2Cl_2 e (iv) $[\text{RuCl}_2(p\text{-cimeno})]_2$ em CH_3CN .^[31]

Por fim, outra vantagem atribuída às fosfinas é o fato de que o fósforo-31 (^{31}P) possui abundância natural de 100% e número quântico de *spin* nuclear (*I*) igual a $\frac{1}{2}$, possibilitando assim, que ele seja utilizado na técnica de ressonância magnética nuclear (RMN). Esta técnica pode ser utilizada como uma poderosa ferramenta para a elucidação estrutural de complexos fosfínicos, graças ao acoplamento magnético entre os átomos de fósforo existentes na esfera de coordenação de um complexo, bem como ao δ (em ppm) observado.^[32]

1.5 Justificativa do trabalho

Tendo em vista as contribuições na pesquisa e desenvolvimento de complexos candidatos a antibióticos que alguns compostos de coordenação possuem, incluindo os de rutênio contendo ligantes *N*-doadores, bem como aqueles que são utilizados comercialmente, há a necessidade da preparação e exploração das propriedades biológicas, visando a obtenção de novos

compostos com potencialidade para vencer a resistência antibacteriana que algumas bactérias, tais como a *E.coli*, adquiriram.

Além disso, de complexos de rutênio (II) contendo ligantes imínicos *N*-heterocíclicos, juntamente com bifosfinas e o óxido nítrico, tornam a química desta classe de compostos atraente e desafiadora, tanto do ponto de vista sintético quanto estrutural.

2. OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS

Os objetivos gerais deste trabalho consistem em sintetizar e caracterizar novos complexos nitrosilos de rutênio (II) contendo o ligante bifosfínico DPEphos e ligantes *N*-heterocíclicos, com posterior aplicação em testes de atividade antibacteriana.

Nesse sentido, os objetivos específicos deste trabalho são:

1. Sintetizar o complexo precursor $[\text{RuCl}_3(\text{NO})(\text{OH}_2)_2]$ utilizando uma metodologia já descrita na literatura para posterior utilização na síntese de complexos bifosfínicos;
2. Sintetizar, purificar o complexo *fac*- $[\text{RuCl}_3(\text{NO})(\kappa^2\text{-P,P'-DPEphos})]$ e estudar a sua reatividade frente a troca de um ligante lábil, tal como o cloro (Cl^-), da esfera de coordenação interna, por um ligante imínico *N*-heterocíclico (**L**) neutro (**L**= piridina, 4-metilpiridina, 1*H*-benzimidazol e 1-metilimidazol) e um ligante alcóxido ($^-\text{OCH}_3$), a fim de ser obter uma série de complexos catiônicos do tipo *trans*(NO,OMe)- $[\text{RuCl}(\text{OMe})(\text{NO})(\kappa^2\text{-P,P'-DPEphos})(\text{L})]\text{PF}_6$.
3. Caracterizar os complexos obtidos utilizando as técnicas de Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF), Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, ^1H e HMBC ($^1\text{H}-^{31}\text{P}$), Análise Elementar (CHN), Espectroscopia Eletrônica na Região do UV-Vis, Espectrometria de Massas (ESI-MS), Condutividade Molar e Difração de Raios X de Monocristal;
4. Realizar cálculos teóricos envolvendo o método da Teoria do Funcional de Densidade (DFT) para a otimização da geometria do complexo *fac*- $[\text{RuCl}_3(\text{NO})(\kappa^2\text{-P,P'-DPEphos})]$ e obtenção dos orbitais moleculares;
5. Testar a reatividade e solubilidade dos complexos obtidos frente ao dmsO, bem como acompanhar este teste por RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e ^1H ;
6. Realizar testes biológicos *in vitro* para atividade antibacteriana em cepas de bactérias de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25932), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) e *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), utilizando o método da concentração mínima inibitória (MIC).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta seção serão descritos os métodos de purificação dos reagentes e solventes utilizados, bem como a instrumentação utilizada para a preparação e caracterização dos complexos obtidos.

3.1 Reagentes Químicos e Instrumentação

Todos os reagentes e solventes utilizados neste trabalho apresentaram grau comercial ou analítico e quando necessário, foram tratados utilizando metodologias descritas previamente na literatura. No que diz respeito a procedência dos reagentes utilizados neste trabalho, o sal de $\text{RuCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ foi adquirido da Johnson Matthey, o ligante bifosfínico DPEphos (98%) da Sigma-Aldrich[®], CD_2Cl_2 (D, 99,9% -Cambridge Isotope Laboratories), dmso-d_6 (D, 99,9%-Sigma-Aldrich[®]) e os ligantes utilizados foram: piridina (99,8% -Sigma-Aldrich[®]), 4-metilpiridina (99% -Sigma-Aldrich[®]), 1*H*-benzimidazol, 1-metilimidazol (99% -Sigma-Aldrich[®]) e dmso (99,5%-Sigma-Aldrich[®]). As sínteses dos complexos precursores e os demais compostos foram efetivadas em atmosfera de argônio, de procedência White Martins, tratado previamente em uma coluna contendo sílica (SiO_2), cloreto de cálcio (CaCl_2) e óxido de manganês (II) (MnO). Os solventes utilizados (metanol, éter etílico e diclorometano) foram tratados de acordo com Amarego e Perrin (1997) e em seguida desaerados.^[33]

3.1.1 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier (IV-TF)

As análises por espectroscopia vibracional na região do infravermelho foram realizadas em pastilhas de KBr e em solução de CH_2Cl_2 , em um espectrofotômetro BIORAD Excalibur series (FTS 3500 GX), na região de 4000 a 400 cm^{-1} , disponível no Departamento de Química da UFPR. A amostra a ser analisada foi preparada a partir do complexo previamente seco, juntamente com o KBr (proporção de aproximadamente 1% m/m), utilizando um almofariz e um pistilo, no qual os dois sólidos foram macerados até que se formasse uma

massa homogênea. A mistura foi comprimida e empastilhada em uma prensa hidráulica SPEPAC com capacidade para 10 toneladas, com posterior coleta do espectro, que foi adquirido com uma resolução de 4 cm^{-1} e acumulação de 32 scans. No entanto, para as análises em solução, foi preparada previamente uma solução de concentração $1,0 \times 10^{-2}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ do complexo em CH_2Cl_2 , seguida da sua injeção em um porta-amostra específico para este tipo de análise.

3.1.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN foram obtidos no espectrômetro BRUKER *Model* DRX 200 MHz; 4,7 Tesla NMR, disponível no Departamento de Química da UFPR. As amostras para as análises de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ foram realizadas ao abrigo de luz para evitar a possível fotoisomerização dos complexos sintetizados. Em um tubo específico para RMN, foram pesados aproximadamente 5,0 mg da amostra, que em seguida foi solubilizada em um solvente não-deuterado, com posterior coleta do espectro. Os deslocamentos químicos (em ppm) foram determinados em relação ao ácido fosfórico (H_3PO_4 – 85%), o qual estava presente em uma solução de D_2O contida no interior de um capilar de 50 mm de comprimento e 1 mm de diâmetro, inserido na amostra preparada para análise. As amostras para análises de RMN de ^1H e HMBC (^1H – ^{31}P) também foram cuidadosamente abrigadas da luz, as quais foram solubilizadas em 500 μL de diclorometano deuterado (CD_2Cl_2) e os espectros foram obtidos em um espectrômetro BRUKER *Model* DRX 400 MHz; 9,4 Tesla NMR, situado no Departamento de Bioquímica da UFPR. Os deslocamentos químicos (em ppm) nos espectros de RMN de ^1H foram determinados em relação ao tetrametilsilano (TMS).

3.1.3 Análise Elementar

As análises de hidrogênio, carbono e nitrogênio foram realizadas em um analisador CHN modelo Carlo Erba EA 1108, da *Facultad* de Química na *Universidad de la Republica Uruguay* em colaboração da Prof^a. Dr^a. Lucía

Otero, por meio do projeto CAPES/UDELAR.

3.1.4 Espectroscopia Eletrônica na Região do UV-Vis

Os espectros eletrônicos na região UV-Vis foram obtidos em um espectrofotômetro VARIAN CARY 100 Bio, no Laboratório de Bioinorgânica e Catálise, localizado no Departamento de Química da UFPR. Foi preparada uma solução de concentração inicial de $1,0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de complexo em CH_2Cl_2 em um balão volumétrico com capacidade para 5,0 mL, ao abrigo de luz, que foi diluída nas concentrações da ordem de 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} e $10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, em balões volumétricos de 10,0 mL. A aquisição dos espectros foi realizada em uma cubeta de quartzo com 1 cm de caminho óptico na região de 200 a 800 nm.

3.1.5 Análise por Espectrometria de Massas

As análises dos complexos por espectrometria de massas foram obtidas em um espectrômetro LTQ-XL Quadrupolo *Linear Ion Trap* da *Thermo Scientific* equipado com uma fonte ESI, disponível no Departamento de Química da UFPR.

3.1.6 Medidas de Condutividade Molar

As medidas de condutividade molar para todos os complexos sintetizados foram realizadas sob o abrigo de luz e em um condutímetro DIGIMED DM-31, previamente calibrado com uma solução padrão de $146,9 \mu\text{S}/\text{cm}$ ($\pm 0,5\%$, 25°C), equipado com uma célula de platina com constante de cela igual a 1,073 e concentração igual a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de complexo em CH_2Cl_2 previamente desaerado.

3.1.7 Difração de Raios X de Monocristal

Para as medidas de difração de raios X dos monocristais, utilizou-se um difratômetro Bruker APEX II CCD utilizando radiação da linha K_α do Mo ($\lambda = 0,7107 \text{ \AA}$), e após a coleta dos dados, a estrutura foi resolvida no Laboratório

de Materiais Inorgânicos da Universidade Federal de Santa Maria, pelo Prof. Dr. Davi Fernando Back.

3.1.8 Cálculos Teóricos

Os cálculos teóricos foram realizados com o auxílio do programa *Gaussian 03*, no qual os métodos DFT e TDDFT foram usados com o funcional B3LYP.^[34-36] O conjunto de bases DGauss DZVP foi utilizado para o rutênio com duas funções *f* adicionais de polarização com expoentes 1,9472 e 0,7489. Este conjunto de base tem a forma (18s12p9d2f)/[6s5p3d2f]. Para os átomos de carbono e hidrogênio, foi utilizado o conjunto de bases 6-31G(d',p') e para os átomos de oxigênio, nitrogênio, cloro e fósforo o conjunto de bases 6-31G(d,p). As estruturas moleculares foram geradas pelo programa MOLDEN e os orbitais moleculares foram desenhados utilizando o programa *Jmol*.^[37-39]

3.2 Ensaios Antibacterianos

Os complexos bifosfínicos de rutênio (II), bem como os ligantes, foram analisados pelo potencial antibacteriano *in vitro* utilizando cepas de bactérias de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25932), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) e *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), no Laboratório de Controle de Qualidade II, localizado no Departamento de Farmácia da UFPR, com a colaboração do Prof. Dr. Fabio Seigi Murakami.

3.2.1 Preparação dos Compostos para os Ensaios Antibacterianos

Para os ensaios antibacterianos foram preparadas soluções dos complexos e dos ligantes sólidos, na concentração de $1,0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, de forma que a concentração do dmso fosse de 6,25% (v/v) na solução final. Para os ligantes no estado líquido, como a piridina, 4-metilpiridina e 1-metilimidazol, utilizou-se a concentração de $2,0 \text{ } \mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$. Desta forma, em um frasco Eppendorf®, adicionou-se 1,0 mg do complexo ou do ligante cuidadosamente pesado, e com o auxílio de um micropipetador GOPET com volume ajustável e

capacidade para 100 μL , acrescentou-se 63,0 μL de dmso (99,5%-Sigma-Aldrich[®]) e 937 μL de ágar Mueller-Hinton - MH (Difco[™]). Após esta etapa, as soluções foram submetidas aos testes utilizando o método da Concentração Mínima Inibitória (MIC), que será detalhado no item a seguir.

3.2.2 Condições de Cultura e Método

Todas as manipulações envolvendo as cepas de bactérias e a preparação dos compostos para os testes antibacterianos foram realizadas em uma câmara de fluxo laminar. Além disso, todos os materiais utilizados, tais como o ágar e caldo MH, água salina (NaCl, 0,9% (v/v)), placas de Petri e ponteiros para micropipetador, foram previamente autoclavados em uma autoclave digital (Digital Biology[®]).

As cepas de bactérias de *E.coli* (ATCC 25922), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *S. aureus* (ATCC 25932), *S. epidermidis* (ATCC 12228) e *E. faecalis* (ATCC 29212), foram cultivadas em ágar MH e mantidas em estufa a 37,0 °C e a 5,0 % de CO₂(g), por 24 horas para promover o crescimento dos microorganismos. Após este tempo de incubação, as cepas foram repicadas com o auxílio de uma alça bacteriológica estéril e descartável, para um tubo de ensaio que continha uma solução salina, que após a adição dos microorganismos tornou-se turva. Em seguida, este mesmo tubo foi acertado a olho nu, na concentração 0,5 de McFarland ($\cong 1,5 \times 10^8$ UFC/mL) em comparação com uma solução padrão de BaSO₄ (Laborclin[®]), como pode ser visto na imagem da Figura 17:

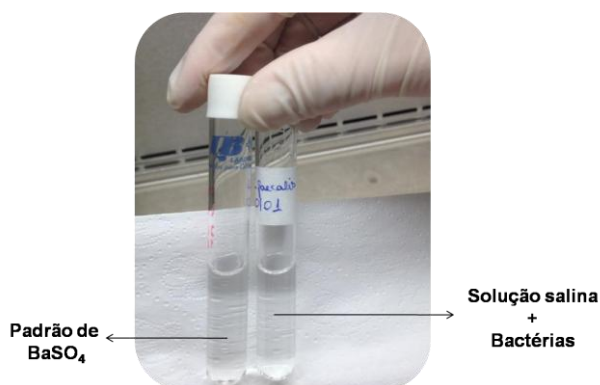


Figura 17: Comparação da turbidez entre a solução salina contendo os microorganismos e o padrão de BaSO₄.

Posteriormente, para a determinação da MIC, foi utilizada uma placa de Elisa com capacidade para 96 poços estéril com fundo "U", como representado na Figura 18. Inicialmente, adicionou-se com o auxílio de um micropipetador DIGIPET® de multicanal, 100,0 μL do caldo Mueller-Hinton esterilizado, em todos os poços. Em seguida foi acrescentado 100 μL da solução estoque contendo o complexo ou o ligante de interesse, nos poços 1A e 2A (duplicata) e homogeneizado. Posteriormente, foi retirado 100 μL dos poços 1A e 2A e transferido para os poços 1B e 2B (duplicata) e este mesmo procedimento foi repetido até os poços 1H e 2H, e nestes últimos, descartou-se 100 μL , para que todos os poços permanecessem isovolumétricos.

Este método é conhecido como técnica de diluições seriadas, de forma que as concentrações de complexo ou ligante foram as seguintes: 500; 250; 125; 62,5; 31,2; 16,0; 8,0, 4,0 e 2,0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, em ordem decrescente. Sucessivamente, foi adicionado 10,0 μL da solução de contém o microorganismo em todos poços.

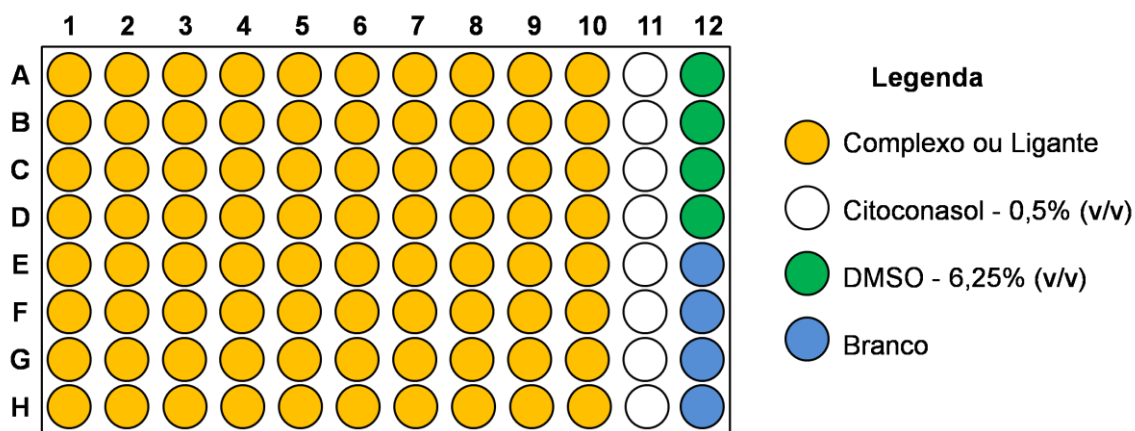


Figura 18: Representação esquemática da placa de Elisa com capacidade para 96 poços, utilizada para os ensaios antibacterianos.

Para o controle antimicrobiano positivo foi utilizado o cloranfenicol (0,5% (v/v) em H_2O) no poços da coluna 11A a 11H, para o controle negativo foi utilizado o dmso (6,25% (v/v)) (coluna 12A-12D) e como branco, uma solução contendo somente o caldo Mueller-Hinton juntamente com o inóculo (coluna 12E-12H), como pode ser visto na figura anterior (Figura 18). Em seguida, a microplaca foi mantida a 37,0 $^{\circ}\text{C}$ em estufa por 24 e 48 horas.

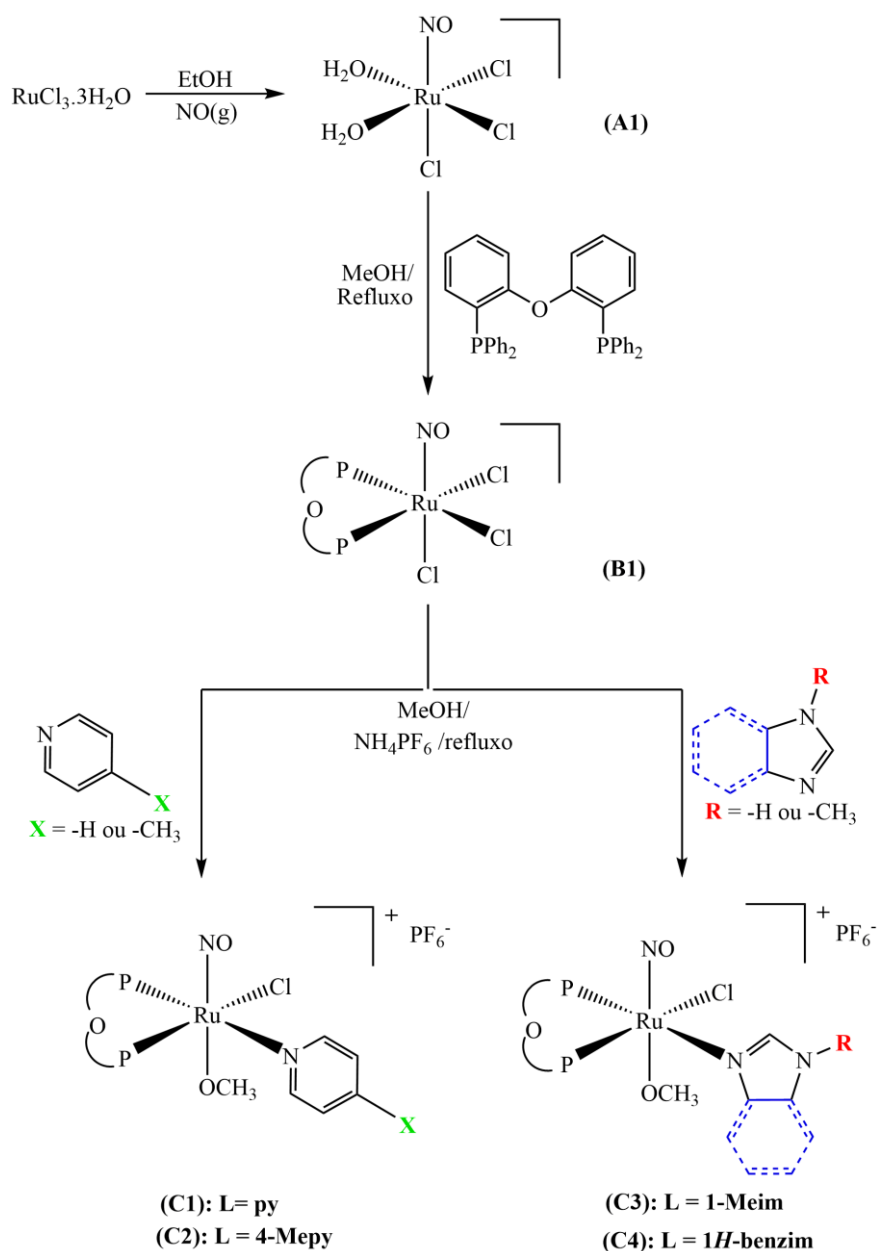
Após o tempo de incubação (\cong 22 horas), foi acrescentado 20,0 μ L do corante TTC (cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio) (NEON[®]) em todos os poços e a placa foi mantida em estufa por mais 2 horas. Posteriormente, foi realizada a leitura comparativa a olho nu da concentração mínima inibitória em cada poço, para cada complexo ou ligante.^[40, 41]

3.2.3 Atividade Bacteriostática e Bactericida

Para determinar a possível atividade bacteriostática e bactericida foram selecionados os compostos que apresentaram valores satisfatórios de MIC ($< 50,0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Dessa forma, após a leitura das placas de Elisa, foi retirado 100,0 μ L de cada poço (meio, complexo e inóculo) e adicionado na superfície de uma placa de Petri contendo ágar TSA (*trypticase soy agar*), a solução foi espalhada com auxílio de uma alça de Drigalski para obter uma homogeneização do sistema. Em seguida, a placa foi levada à estufa a 37 °C, por 24 horas. Após 24 horas, foi verificada a atividade dos complexos frente ao crescimento (bacteriostático) ou não-crescimento (bactericida) das bactérias.

3.3 Metodologia Experimental

No esquema a seguir (Esquema 3), está representada a rota sintética para a obtenção dos complexos precursores bem como a série de complexos catiônicos do tipo *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(L)]PF₆, apresentados neste trabalho, cujos códigos adotados para simplificação, estarão presentes (em negrito e entre parênteses) ao lado da fórmula estrutural de cada composto:



Esquema 3: Rota sintética para a obtenção de todos os complexos apresentados neste trabalho.

3.3.1 Síntese do Complexo Precursor $[\text{RuCl}_3(\text{NO})(\text{OH}_2)_2]$ (A1)

O complexo precursor $[\text{RuCl}_3(\text{NO})(\text{OH}_2)_2]$ foi preparado conforme metodologia descrita por Fletcher *et al.*^[42] Em um frasco de Kipp, foi adicionado ácido nítrico (HNO_3 – 33%), juntamente com cobre metálico, resultando na formação do NO(g) , que foi borbulhado em uma solução saturada de hidróxido de sódio (NaOH) e em seguida seco em uma coluna contendo cloreto de cálcio (CaCl_2). Posteriormente, o gás é borbulhado em fluxo lento por

aproximadamente cinco dias, em uma solução alcoólica contendo 1,0 g (3,82 mmol) de $\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ e 50 mL de etanol previamente desaerado. O solvente da solução vermelha resultante é totalmente removido a vácuo e o sólido formado foi seco a vácuo e mantido em um dessecador durante 24 horas antes de sua utilização. O rendimento da reação foi de 98% (1,02 g). **IV-TF** (cm^{-1}): $\nu(\text{NO}) = 1917$ em KBr.

3.3.2 Síntese do Complexo Bifosfínico Precursor *fac*- $[\text{RuCl}_3(\text{NO})(\kappa^2\text{-P,P'-DPEphos})]$ (B1)

Em um frasco tipo Schlenk adicionaram-se 100,0 mg (0,365 mmol) do complexo $[\text{RuCl}_3(\text{NO})(\text{OH}_2)_2]$, juntamente com 196,0 mg (0,364 mmol) do ligante DPEphos e 30 mL de metanol previamente desaerado. A mistura inicialmente vermelha foi mantida em agitação magnética, refluxo (65°C) e sob atmosfera de argônio durante 2 horas, resultando na formação de uma solução amarela com um sólido de mesma cor que precipitou durante a reação. Este sólido foi filtrado, lavado com éter etílico, que em seguida seco sob vácuo durante 24 horas antes da sua utilização. O rendimento da reação foi de 97,0% (0,283 g). **ESI-MS**: Encontrado (calculado): m/z 740,1 (740,0) $[\text{M}-\text{Cl}]^+$. **Análise elementar** para $\text{C}_{36}\text{H}_{28}\text{Cl}_3\text{NO}_2\text{P}_2\text{Ru}$: (Calculado) C 55,72%; H 3,64%; N 1,81%; encontrados por análise de %CHN : C 54,22%, H 3,46%; N 1,75% . **RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$** (CH_2Cl_2 , 81 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 13,1$ (s). **RMN de ^1H** (CD_2Cl_2 , 200 MHz): hidrogênios do anel aromático do DPEphos: $\delta(\text{ppm}) = 6,5\text{-}8,0$ (28H). **IV-TF** (cm^{-1}): $\nu(\text{NO}) = 1856$ em KBr e 1870 em solução de CH_2Cl_2 . **Condutividade Molar** em CH_2Cl_2 ($\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$): 0,22. **UV-Vis** (CH_2Cl_2): $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$): 228 ($4,09 \times 10^4$), 278 ($2,34 \times 10^4$), 405 (335).

3.4 Síntese da Série Catiônica com Fórmula Geral: *trans*(NO,OMe)- $[\text{RuCl}(\text{OMe})(\text{NO})(\kappa^2\text{-P,P'-DPEphos})(\text{L})]\text{PF}_6$ (L= py, 4-Mepy, 1-Meim e 1*H*-Benzim)

Nesta seção será descrita a metodologia experimental para a preparação da série de complexos catiônicos do tipo *trans*(NO,OMe)- $[\text{RuCl}(\text{OMe})(\text{NO})(\kappa^2\text{-P,P'-DPEphos})(\text{L})]\text{PF}_6$ (L = py, 4-Mepy, 1-Meim e 1*H*-Benzim).

3.4.1 *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(py)]PF₆ (**C1**)

Em um frasco tipo Schlenk adicionaram-se 60,0 mg (0,0622 mmol) do complexo *fac*-[RuCl₃(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)], juntamente com 62 μ L (0,770 mmol) de piridina, 15 mL de metanol previamente desaerado e 63,0 mg (0,386 mmol) de NH₄PF₆. A mistura foi mantida em agitação magnética, refluxo (65°C), sob atmosfera de argônio durante 5 horas, resultando na formação de uma solução amarela. O volume da reação foi reduzido sob vácuo a aproximadamente 3 mL e a esta solução resultante foi adicionado éter etílico, promovendo a precipitação de um sólido amarelo, que foi filtrado, lavado com água destilada e éter etílico, que em seguida foi seco sob vácuo durante 24 horas antes da sua caracterização e utilização. O rendimento da reação foi de 72,7% (0,0539 g).

Os monocristais deste complexo (**C1**), foram obtidos em um frasco Schlenk, no qual adicionou-se 60,0 mg (0,0622 mmol) do complexo bifosfínico precursor *fac*-[RuCl₃(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)], juntamente com 62 μ L (0,770 mmol) de piridina, 63,0 mg (0,386 mmol) de NH₄PF₆ e 15,0 mL de MeOH previamente desaerado. O sistema foi mantido sob agitação, refluxo (65°C) e atmosfera de argônio durante 5 horas e, após este tempo, o frasco foi mantido sob refrigeração durante 3 dias, resultando na formação de cristais alaranjados, que foram separados da solução por filtração.

Análise elementar para C₄₂H₃₆ClF₆N₂O₃P₃Ru: (Calculado) C 52,54%; H 3,78%; N 2,92%; encontrados por análise de %CHN : C 52,21%, H 3,87%; N 2,85%. **RMN de ³¹P{¹H}** (CH₂Cl₂, 81 MHz): δ (ppm) = 17,2 (d); 7,32 (d), ²J_{P-P} = 28,5 Hz. **RMN de ¹H** (CD₂Cl₂, 200 MHz): hidrogênios do anel aromático do DPEphos: δ (ppm) = 6,5-8,0 (28H); 7,29-7,35 (3H da py), 8,52 (s, 2H _{α} da py) e 2,85 (s, 3H do CH₃O⁻). **IV-TF** (cm⁻¹): ν (NO) = 1846 em KBr e 1835 em solução de CH₂Cl₂; ν (PF₆⁻) = 835. **Condutividade Molar** em CH₂Cl₂ (μ S·cm⁻¹): 58,8. **UV-Vis** (CH₂Cl₂): λ_{max} /nm (ϵ / L·mol⁻¹·cm⁻¹): 228 (4,32 x 10⁴), 278 (2,47 x 10⁴), 322 (0,973 x 10⁴) e 405 (881).

3.4.2 *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(4-Mepy)]PF₆ (C2)

Em um frasco tipo Schlenk adicionaram-se 60,0 mg (0,0622 mmol) do complexo *fac*-[RuCl₃(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)], juntamente com 75 μ L (0,770 mmol) de 4-metilpiridina, 15 mL de metanol previamente desaerado e 63,0 mg (0,386 mmol) de NH₄PF₆. A mistura foi mantida em agitação magnética, refluxo (65°C), sob atmosfera de argônio durante 4 horas, resultando na formação de uma solução amarela. O volume da reação foi reduzido sob vácuo a aproximadamente 3 mL e a esta solução resultante foi adicionado éter etílico, promovendo a precipitação de um sólido amarelo, que foi filtrado, lavado com água destilada e éter etílico, que em seguida foi seco sob vácuo durante 24 horas antes da sua caracterização e utilização. O rendimento da reação foi de 80,2% (0,0604 g). **Análise elementar** para C₄₃H₃₈ClF₆N₂O₃P₃Ru: (Calculado) C 53,01%; H 3,93%; N 2,88%; encontrados por análise de %CHN : C 52,89%, H 3,64%; N 2,86%. **RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$** δ (ppm) = 16,6 (d); 7,15 (d), $^2J_{\text{P-P}}$ = 28,3 Hz. **RMN de ^1H** (CD₂Cl₂, 200 MHz): hidrogênios do anel aromático do DPEphos: δ (ppm) = 6,5-8,0 (28H); 7,26-7,35 (2H da 4-Mepy), 8,42 (s, 2H _{α} da 4-Mepy), 2,94 (s, 3H do CH₃O⁻) e 2,43 (s, 3H, CH₃ da 4-Mepy). **IV-TF** (cm⁻¹): ν (NO) = 1832 em KBr e 1837 em solução de CH₂Cl₂; ν (PF₆⁻) = 843. **Condutividade Molar** em CH₂Cl₂ ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$): 61,1. **UV-Vis** (CH₂Cl₂): λ_{max} /nm (ϵ / L $\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$): 228 (4,32 x 10⁴), 278 (2,50 x 10⁴), 320 (0,983 x 10⁴) e 405 (747).

3.4.3 *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(1-Meim)]PF₆ (C3)

Em um frasco tipo Schlenk adicionaram-se 60,0 mg (0,0622 mmol) do complexo *fac*-[RuCl₃(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)], juntamente com 32 μ L (0,770 mmol) de 1-metilimidazol, 15 mL de metanol previamente desaerado e 63,0 mg (0,193 mmol) de NH₄PF₆. A mistura foi mantida em agitação magnética, refluxo (65°C), sob atmosfera de argônio durante 4 horas, resultando na formação de uma solução amarela. O volume da reação foi reduzido sob vácuo a aproximadamente 3 mL e a esta solução resultante foi adicionado éter etílico,

promovendo a precipitação de um sólido amarelo, que foi filtrado, lavado com água destilada e éter etílico, que em seguida foi seco sob vácuo durante 24 horas antes da sua caracterização e utilização. O rendimento da reação foi de 70,6% (0,0525 g). **Análise elementar** para $C_{41}H_{37}ClF_6N_3O_3P_3Ru$: (Calculado) C 51,13%; H 3,87%; N 4,36%; encontrados por análise de %CHN : C 49,49%, H 3,54%; N 4,87%. **RMN de $^{31}P\{^1H\}$** (CH_2Cl_2 , 81 MHz): δ (ppm) = 14,8 (d); 7,24 (d), $^2J_{P-P}$ = 29,8 Hz. **RMN de 1H** (CD_2Cl_2 , 200 MHz): hidrogênios do anel aromático do DPEphos: δ (ppm) = 6,5-8,0 (28H); 6,87-7,38 (3H do 1-Meim), 3,53 (s, 3H, CH_3 do 1-Meim), e 3,02 (s, 3H do CH_3O^-). **IV-TF** (cm^{-1}): $\nu(NO)$ = 1837 em KBr e 1839 em solução de CH_2Cl_2 ; $\nu(PF_6^-)$ = 843. **Condutividade Molar** em CH_2Cl_2 ($\mu S \cdot cm^{-1}$): 53,1. **UV-Vis** (CH_2Cl_2): λ_{max}/nm ($\epsilon/L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$): 228 ($3,58 \times 10^4$), 278 ($2,08 \times 10^4$), 321 ($0,747 \times 10^4$) e 405 (776).

3.4.4 *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(1H-Benzim)]PF₆ (C4)

Em um frasco tipo Schlenk adicionaram-se 60,0 mg (0,0622 mmol) do complexo *fac*-[RuCl₃(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)], juntamente com 182,0 mg (0,770 mmol) de 1H-benzimidazol, 15 mL de metanol previamente desaerado e 63,0 mg (0,193 mmol) de NH₄PF₆. A mistura foi mantida em agitação magnética, refluxo (65°C), sob atmosfera de argônio durante 2 horas e 30 minutos, resultando na formação de uma solução amarela. O volume da reação foi reduzido sob vácuo a aproximadamente 3 mL e a esta solução resultante foi adicionado éter etílico, promovendo a precipitação de um sólido amarelo, que foi filtrado, lavado com água destilada e éter etílico, que em seguida foi seco sob vácuo durante 24 horas antes da sua caracterização e utilização. O rendimento da reação foi de 78,4% (0,0606 g). **Análise elementar** para $C_{44}H_{37}ClF_6N_3O_3P_3Ru$: (Calculado) C 52,89%; H 3,73%; N 4,21%; encontrados por análise de %CHN : C 52,01%, H 3,57%; N 4,96%. **RMN de $^{31}P\{^1H\}$** (CH_2Cl_2 , 81 MHz): δ (ppm) = 15,1 (d); 7,44 (d), $^2J_{P-P}$ = 30,2 Hz. **RMN de 1H** (CD_2Cl_2 , 200 MHz): hidrogênios do anel aromático do DPEphos: δ (ppm) = 6,5-8,0 (28H); 7,21-7,61 (4H do anel do 1H-benzim), 10,26 (s, 1H, NH do 1H-benzim), 8,09 (1H, CH do 1H-benzim) e 2,98 (s, 3H do CH_3O^-). **IV-TF** (cm^{-1}):

$\nu(\text{NO}) = 1841$ em KBr e 1837 em solução de CH_2Cl_2 ; $\nu(\text{PF}_6^-) = 843$. **Condutividade Molar** em CH_2Cl_2 ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$): 26,9. **UV-Vis** (CH_2Cl_2): $\lambda_{\text{max.}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$): 228 ($4,34 \times 10^4$), 271 ($2,90 \times 10^4$), 278 ($2,85 \times 10^4$), 321 ($0,938 \times 10^4$) e 405 (1190).

3.5 Reação de Oxidação do Ligante *bis*[2-(*difenilfosfina*)*fenil*]éter (DPEphos)

Em um balão de fundo redondo com capacidade para 25,0 mL, adicionou-se 3,0 mL de benzeno e em seguida, sob agitação, 30,0 mg (0,0557 mmol) do DPEphos. Após a solubilização do composto bifosfínico, foram adicionados 478 μL de H_2O_2 (35 % P.A) e a mistura foi mantida em agitação magnética, temperatura ambiente, durante 48 horas. Ao final da deste tempo, houve a formação de um sólido branco, que foi separado da solução sobrenadante por filtração e seco à vácuo durante 24 horas antes da sua caracterização e utilização. O rendimento da reação foi de 89,1% (0,0283 g). **ESI-MS**: Encontrado (calculado): m/z 570,2 (571,2) $[\text{M}-\text{H}]^+$. **RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$** (CH_2Cl_2 , 81 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 25,4$ (s). **IV-TF** (cm^{-1}): $\nu(\text{P}=\text{O}) = 1210$ em KBr.

3.6 Testes de Reatividade com dmso

Os testes de reatividade com dmso foram realizados utilizando dmso- d_6 (99,96% - Sigma-Aldrich®) como reagente e solvente. Este experimento foi acompanhado por RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e ^1H e a solução contida em um tubo para RMN foi mantida constantemente na ausência de luz. Desta forma, adicionou-se em um tubo específico para análise de RMN, uma determinada quantidade de complexo pesado previamente, juntamente com 500 μL de dmso- d_6 , a fim de se obter uma solução com concentração de $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de complexo. Após 5 minutos da adição do solvente foi obtido um espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e de ^1H em um espectrômetro BRUKER Model DRX 200 MHz; 4,7 Tesla NMR, e ao término deste, a solução foi mantida ao abrigo da luz e posteriormente analisada nos tempos de 30 minutos, 1, 24 horas e 1 semana após a solubilização em dmso- d_6 .

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Considerações Sobre a Rota Sintética Adotada

Como pode ser observado no Esquema 3, a reatividade do complexo bifosfínico precursor *fac*-[RuCl₃(NO)(κ²-P,P'-DPEphos)] frente a ligantes imínicos *N*-heterocíclicos, utilizando MeOH como solvente, excesso de ligante **L** e contra-íon, na proporção 1:10:5 (precursor: ligante **L**: NH₄PF₆), possibilitou a formação de uma série de complexos alcóxido-rutênio(II), do tipo *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ²-P,P'-DPEphos)(**L**)]PF₆.

Na literatura, foi possível encontrar alguns artigos que relatam a preparação de complexos nitrosilos de Ru^{II} contendo o ligante metóxi, em condições de reação muito similares às aquelas adotadas para a síntese dos compostos apresentados neste trabalho. Dentre as publicações, podemos mencionar a de Coe *et al.*, que relatam a síntese e caracterização do complexo dicatônico *cis*-[Ru(OMe)(pdma)(py)₂(NO)](PF₆)₂ (pdma = 1,2-fenilenobis(dimetilarsina)), utilizando excesso de piridina e MeOH como solvente da reação. Os autores não sugerem um mecanismo para a formação do ligante CH₃O⁻ e coordenação ao complexo, porém apontam que o álcool possui função dupla neste tipo de reação (solvente e pré-ligante) e que o excesso de base em um solvente prótico, é capaz de formar o ligante alcóxido, que por sua vez, substitui um ligante cloro da esfera de coordenação.^[43]

Da mesma forma que no trabalho de Coe *et al.*, onde o ligante metóxi está em posição *trans* ao ligante catiônico NO⁺, Hinaro *et al.*, também relataram a síntese de alguns complexos utilizando o MeOH com dupla função, como é o caso dos complexos *trans*-[Ru(NO)(OCH₃)(pyca)₂] (pyca = 2-carboxilatopiridina) e [RuCl(OCH₃)(NO)(terpy)]PF₆ (terpy = 2,2':6'2"-terpiridina), e que seguem a mesma tendência estrutural.^[44-45]

4.2 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF)

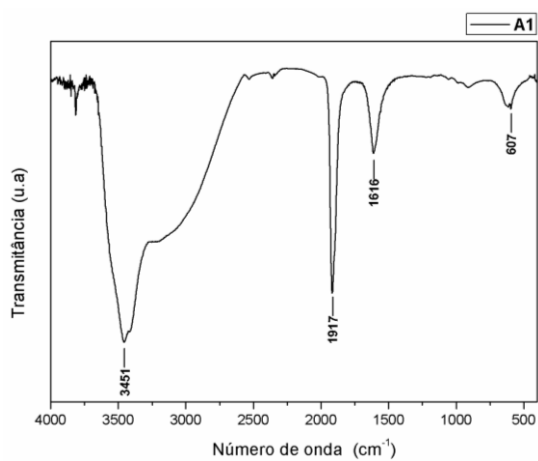
A frequência do estiramento $\nu(\text{NO})$ para a molécula de $\text{NO}(\text{g})$ na sua forma livre ou não coordenada é de 1870 cm^{-1} , de modo que a ligação desta molécula com um centro metálico pode resultar no aumento ou decréscimo deste valor. Além disso, o valor de $\nu(\text{NO})$ pode ser alterado na presença de outros ligantes na esfera de coordenação, configuração eletrônica e carga do complexo.^[17]

Desta forma, para todos os complexos sintetizados neste trabalho, o espectro vibracional apresentou uma banda intensa referente ao estiramento $\nu(\text{NO})$, em pastilha de KBr e em solução de CH_2Cl_2 , indicando que este ligante está coordenado ao centro metálico na forma $\{\text{Ru}^{\text{II}}-\text{NO}^+\}$, cujos valores deste estiramento estão apresentados na Tabela 2.^[46, 47] Além disso, a $\nu(\text{NO})$ para todos os complexos permaneceu na faixa de $1832\text{-}1856 \text{ cm}^{-1}$, indicando, conforme a literatura, que a ligação M-NO em todos complexos é linear, tanto em pastilha de KBr quanto em solução de CH_2Cl_2 .^[48]

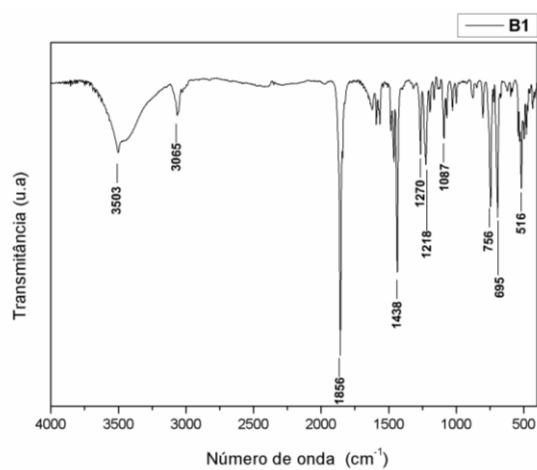
Tabela 2: Valores do estiramento $\nu(\text{NO})$ para os complexos sintetizados, em pastilha de KBr e em solução de CH_2Cl_2 .^[48]

Complexo	$\nu(\text{NO}) (\text{cm}^{-1})$ em KBr	$\nu(\text{NO}) (\text{cm}^{-1})$ em solução de CH_2Cl_2
A1	1917	-
B1	1856	1870
C1	1846	1835
C2	1832	1837
C3	1837	1839
C4	1841	1837

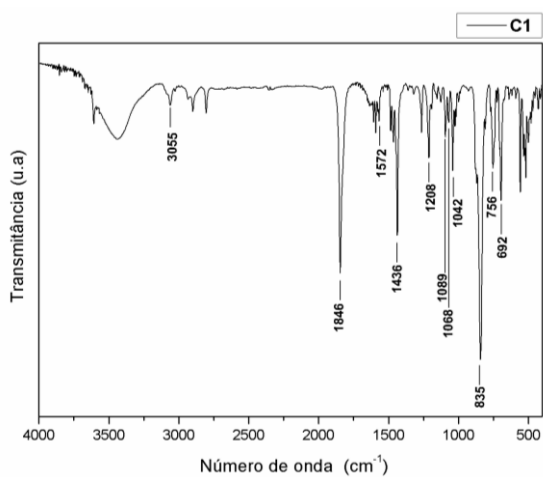
A seguir estão representados os espectros vibracionais na região do infravermelho para todos os complexos, obtidos em pastilha de KBr:



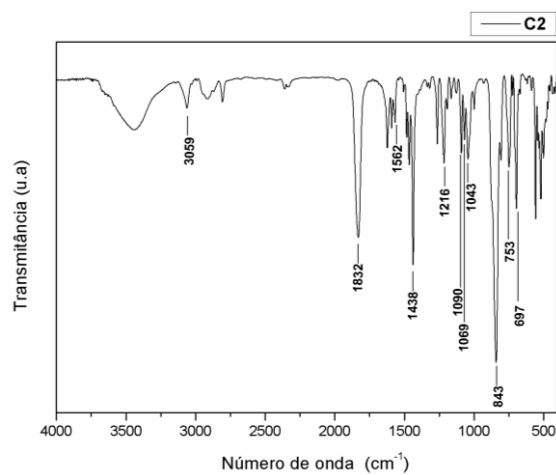
(a)



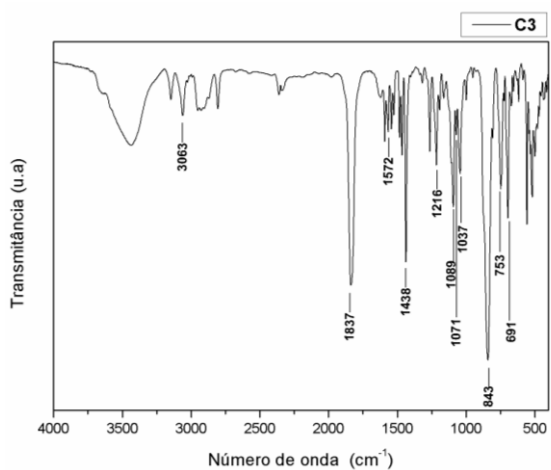
(b)



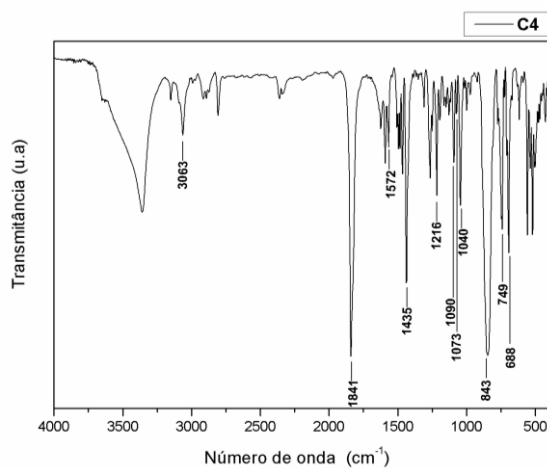
(c)



(d)



(e)



(f)

Figura 19: Espectros vibracionais na região do infravermelho obtidos em pastilha de KBr dos complexos (a) A1, (b) B1, (c) C1, (d) C2, (e) C3 e (f) C4.

Na tabela a seguir estão apresentadas as atribuições tentativas das principais bandas obtidas nos espectros apresentados anteriormente:

Tabela 3: Atribuições tentativas para os espectros de IV-TF. [49-52]

Atribuições (Intensidades)	<i>trans</i> (NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(L)]PF ₆			
	L= py	4-Mepy	1-Meim	1H- Benzim
ν (=C-H) (f)	3055	3059	3063	3063
ν (NO) (F)	1846	1832	1837	1841
ν (C=N) (m)	1572	1562	1572	1572
ν (C-C) (m)	1436	1438	1438	1435
ν (anel) (m)	1208	1216	1216	1216
ν (OCH ₃) (m)	1068; 1089	1069; 1090	1071;1089	1073;1090
ν (PF ₆ ⁻) (F)	835	843	843	843
δ (CH) _{ar} e γ (CH)	756; 692	753; 697	753; 691	749; 688

F = muito forte; m = média; f = fraca; ν = vibração de estiramento; δ = deformação no plano e γ = deformação fora do plano.

Como pode ser observado nos espectros de IV-TF obtidos em pastilhas de KBr da Figura 19, a banda atribuída ao estiramento ν (NO) é deslocada para valores de número de onda (cm⁻¹) menores na série catiônica, quando comparada com o complexo precursor **B1**. Para melhor visualização desta variação discreta no valor do estiramento em questão, foram obtidos os espectros vibracionais em solução de CH₂Cl₂ (1,0 x 10⁻² mol·L⁻¹ de complexo).

Como pode visto na Figura 20, estão apresentados os espectros obtidos em solução de CH₂Cl₂, nos quais foi ampliada a região entre 1700-2000 cm⁻¹, de forma que podemos observar uma única banda simétrica para cada complexo, referente ao estiramento ν (NO):

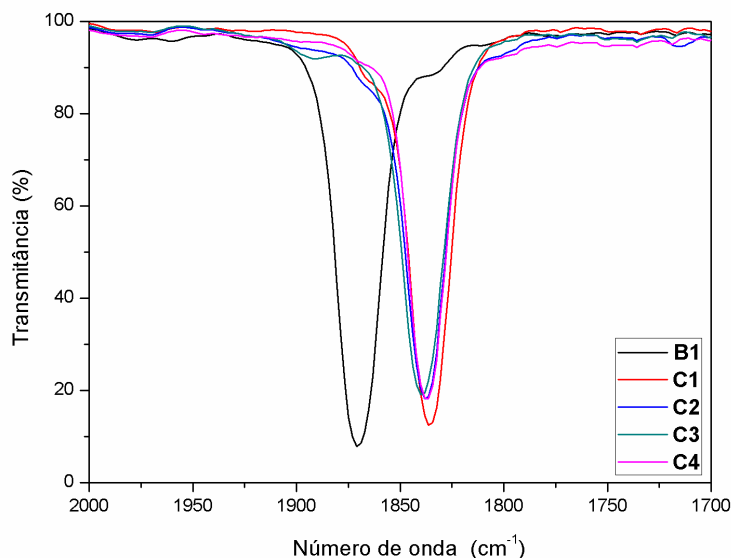


Figura 20: Espectros vibracionais para os complexos (a) **B1**, (b) **C1**, (c) **C2**, (d) **C3** e (d) **C4**, com ampliação na região entre 1700 – 2000 cm^{-1} em solução de CH_2Cl_2 .

Podemos observar no espectro da figura anterior (Figura 20) que há o deslocamento da banda atribuída ao $\nu(\text{NO})$ para menor valor de número de onda (cm^{-1}), quando substituímos o ligante cloro do complexo precursor pelo alcóxido nos complexos catiônicos. Este comportamento pode ser explicado ao compararmos a basicidade entre estes dois ligantes, bem como a influência que esta substituição irá causar na ordem de ligação N-O do cátion NO^+ em posição *trans* ao ligante alcóxido. Desta forma, o ligante metóxi possui maior basicidade que o íon cloreto, de forma que a presença deste ligante em posição *trans* ao cátion NO^+ irá promover o aumento da retroligação $\text{Ru} \rightarrow \text{NO}$ e consequentemente, a ligação N-O torna-se mais fraca, de forma que a ordem de ligação entre estes dois átomos será menor, refletindo no deslocamento da banda $\nu(\text{NO})$ para regiões de menor energia.

4.3 Caracterização dos complexos bifosfínicos por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$

A RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ é uma ferramenta que permite a caracterização de complexos contendo ligantes fosfínicos e que proporciona, por meio da interpretação adequada dos resultados obtidos, estabelecermos o arranjo destes ligantes na esfera de coordenação do metal. Este arranjo está

intimamente relacionado a alguns fatores, tais como os valores de deslocamento químico dos sinais gerados, bem como das constantes de acoplamento entre os núcleos de fósforo ou entre núcleos distintos, como o hidrogênio ou até mesmo o próprio metal.^[53,54]

A seguir serão apresentados e discutidos os espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para todos os complexos fosfínicos sintetizados neste trabalho.

4.3.1 *fac*-[RuCl₃(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)]

Como pode ser observado no espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (CH_2Cl_2 , 81 MHz) da Figura 21, há um simpleto em $\cong 13,1$ ppm, além da referência de H_3PO_4 (85%). Este único sinal sugere que os átomos de fósforo do ligante quelato bifosfínico, DPEphos, são magneticamente equivalentes, de modo a fórmula estrutural proposta é aquela que está representada imediatamente acima do espectro.

Quando comparados os valores de deslocamento químico entre o complexo e o ligante DPEphos na sua forma livre ($\delta \cong -16,6$ ppm) (Figura 21), observamos o sinal gerado no complexo é deslocado para a região positiva do espectro, sugerindo que houve coordenação do ligante bifosfínico.

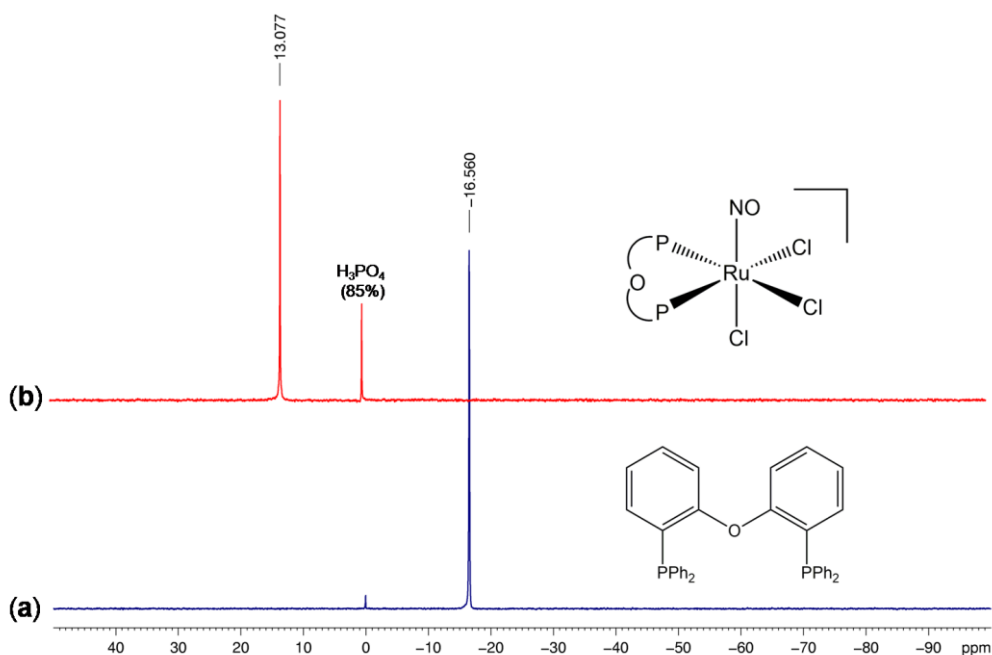


Figura 21: Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o ligante bifosfínico DPEphos livre (a) em solução de C_6H_6 e (b) para o complexo precursor **B1** em solução de CH_2Cl_2 .

4.3.2 Série $trans(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(\kappa^2-P,P'-DPEphos)(L)]PF_6$ (L= py, 4-Mepy, 1-Meim e 1*H*-Benzim)

Os espectros de RMN de $^{31}P\{^1H\}$ para a série de complexos alcóxido-rutênio contendo os ligantes *N*-heterocíclicos apresentaram dois dupletos, ou seja, os átomos de fósforo do ligante DPEphos nestes complexos são magneticamente não equivalentes e isto ocorre após a troca de dois ligantes cloro do precursor *fac*- $[RuCl_3(NO)(\kappa^2-P,P'-DPEphos)]$ por um ligante imínico *N*-heterocíclico e o metóxido.^[54]

Desta forma, ao levarmos em consideração esta não equivalência dos átomos de fósforo do ligante bifosfínico DPEphos, podemos sugerir um arranjo estrutural para estes complexos, de forma que um dos átomos de fósforo está em posição *trans* ao um átomo de cloro e outro átomo de fósforo, em posição *trans* ao ligante *N*-heterocíclico. Ainda, todos os espectros apresentaram um septeto em $\cong -144$ ppm, devido à presença do contra-íon PF_6^- , utilizado para manter o balanço de carga em todos os complexo.^[55] Na figura a seguir, estão apresentados os espectros de RMN de $^{31}P\{^1H\}$ obtidos:

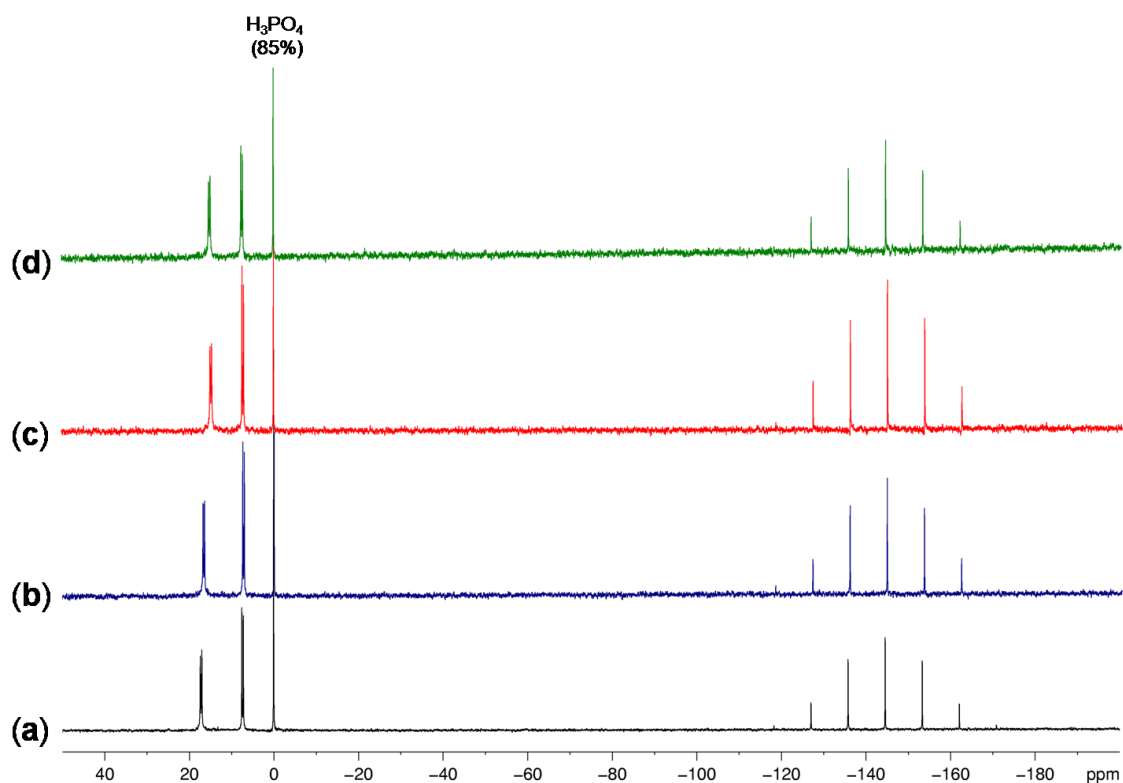


Figura 22: Espectros de RMN de $^{31}P\{^1H\}$ dos complexos catiônicos em solução de CH_2Cl_2 , onde (a) C1, (b) C2, (c) C3 e (d) C4.

A ampliação dos sinais na região positiva dos espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ apresentados anteriormente, juntamente com seus respectivos valores δ (em ppm), encontra-se na figura abaixo (Figura 23) para melhor visualização:

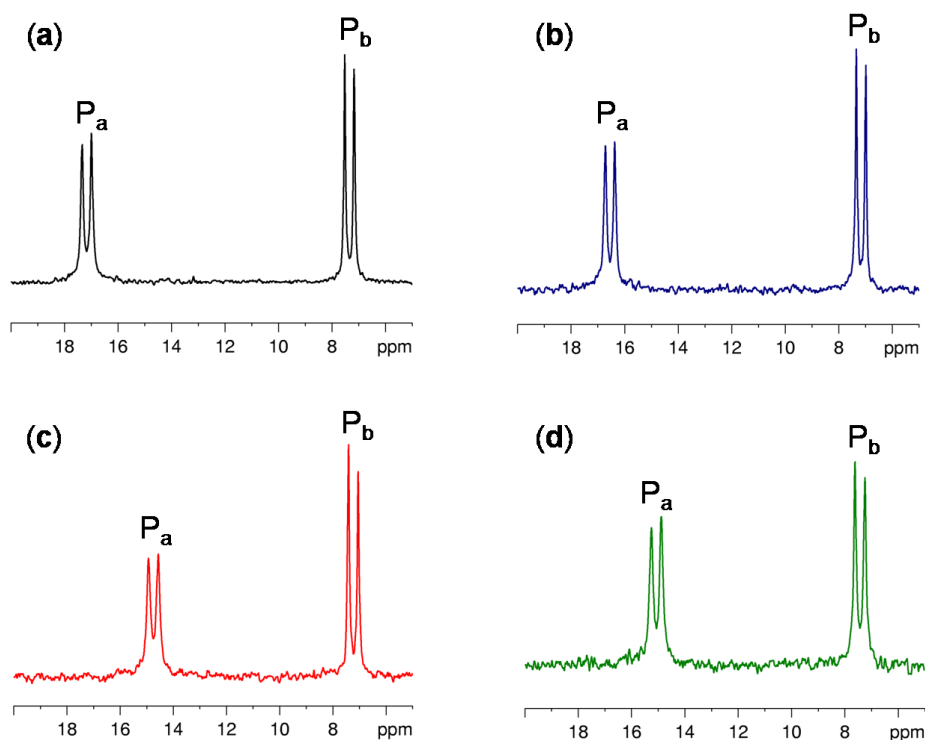


Figura 23: Ampliação dos sinais na região entre 5 e 20 ppm dos espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ demonstrados na Figura 27, referentes aos complexos do tipo *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(L)]PF₆, em solução de CH₂Cl₂, onde (a) **C1**, (b) **C2**, (c) **C3** e (d) **C4**.

Na tabela a seguir (Tabela 4), estão apresentados os valores de δ (ppm) e $^2J_{\text{P-P}}$ (Hz), obtidos a partir dos espectros das Figuras 22 e 23:

Tabela 4: Valores de deslocamentos químicos e constantes de acoplamento para complexos do tipo *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(L)]PF₆.

Complexo	δ (ppm)		$^2J_{\text{P-P}}$ (Hz)
	P _a	P _b	
C1	17,2	7,32	28,5
C2	16,6	7,15	28,3
C3	14,8	7,24	29,8
C4	15,1	7,44	30,2

De acordo com os complexos análogos de fórmula geral *cis*-[RuCl₂(NO)(dppp)(L)]PF₆ (L = py, 4-Mepy e 4-Phpy), relatados por Golfeto *et al.*, o duplete com maior δ (ppm) é referente ao átomo de fósforo do ligante bifosfínico que está em posição *trans* ao ligante *N*-heterocíclico, ao passo que o outro duplete, com menor δ (ppm), é referente ao fósforo *trans* a Cl⁻.^[25]

Desta forma, podemos assumir que nos espectros da Figura 23, a representação adotada como P_a é atribuída ao átomo de fósforo do ligante DPEphos que está *trans* ao ligante L, ao passo que P_b é atribuído ao fósforo *trans* ao ligante cloro. Uma evidência para estas atribuições está na sutil variação sutil do δ (ppm) entre 7,15 e 7,44 ppm, como pode ser visto na Tabela 4.

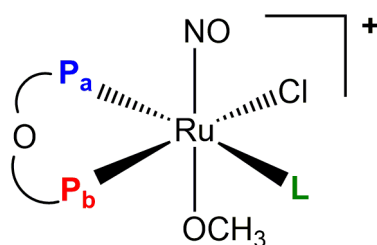


Figura 24: Proposta estrutural para a série de complexos catiônicos de fórmula geral *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ²-P,P'-DPEphos)(L)]PF₆, com base no experimento de RMN de ³¹P{¹H} e complexos análogos encontrados na literatura.

Tendo em vista a variabilidade de estruturas possíveis para estes complexos, podemos propor algumas estruturas possíveis, as quais estão representadas na Figura 25:

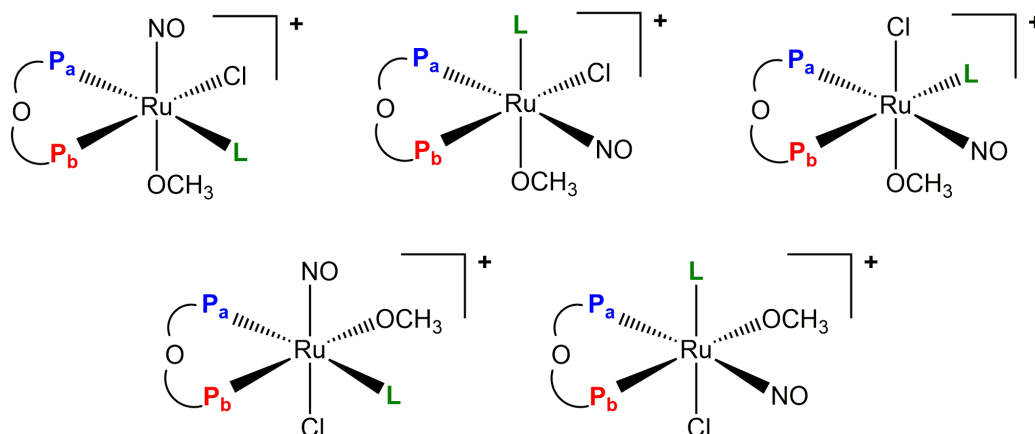


Figura 25: Estruturas propostas para a série de complexos catiônicos de fórmula geral [RuCl(OMe)(NO)(κ²-P,P'-DPEphos)(L)]PF₆, com base no experimento de RMN de ³¹P{¹H}.

Diante das possibilidades estruturais para estes complexos, experimentos de RMN de ^1H e HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation* - Correlação Heteronuclear a Múltiplas Ligações: $^1\text{H} - ^{31}\text{P}$), serão apresentados no próximo tópico, a fim de comprovar a existência de um ligante *N*-heterocíclico em posição *trans* ao átomo de fósforo indicado por P_a na Figura 24, além da presença de um ligante metóxido *trans* a NO^+ .

4.4 Caracterização dos complexos bifosfínicos por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e HMBC ($^1\text{H} - ^{31}\text{P}$)

A RMN de ^1H é utilizada como uma ferramenta eficiente para a caracterização estrutural de complexos que contém ligantes orgânicos. Neste sentido, esta técnica permitiu a verificação da presença dos ligantes *N*-heterocíclicos, DPEphos e metóxi, coordenados ao centro de Ru^{II} . Desta forma, para o complexo precursor *fac*- $[\text{RuCl}_3(\text{NO})(\kappa^2\text{-P,P}'\text{-DPEphos})]$, pode-se observar com o auxílio do espectro apresentado na figura abaixo (Figura 26), que há a presença de sinais na região de 6,5 a 8 ppm, referente aos hidrogênios dos anéis aromáticos do ligante DPEphos, evidenciando a sua coordenação e sustentando a proposta estrutural discutida anteriormente com base na RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$.^[30]

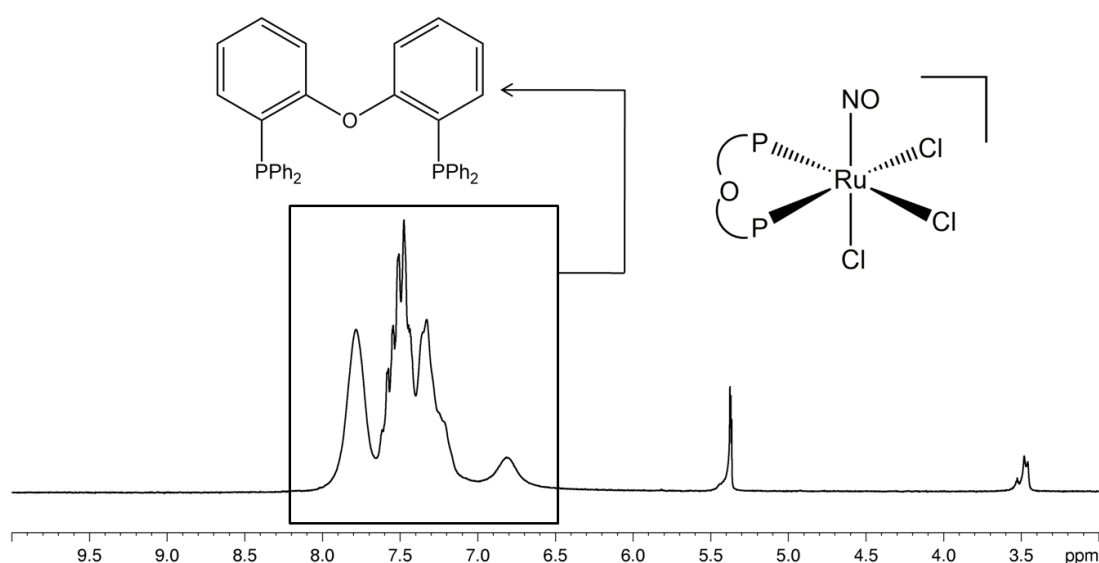


Figura 26: Espectro de RMN de ^1H em CD_2Cl_2 para o complexo precursor **B1**, obtido em um espectrômetro de 200 MHz (4,7 T).

A seguir, estão apresentados os espectros de RMN de ^1H para a série de complexos *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(L)]PF₆, obtidos em CD₂Cl₂, em um espectrômetro de 200 MHz (4,7 T).

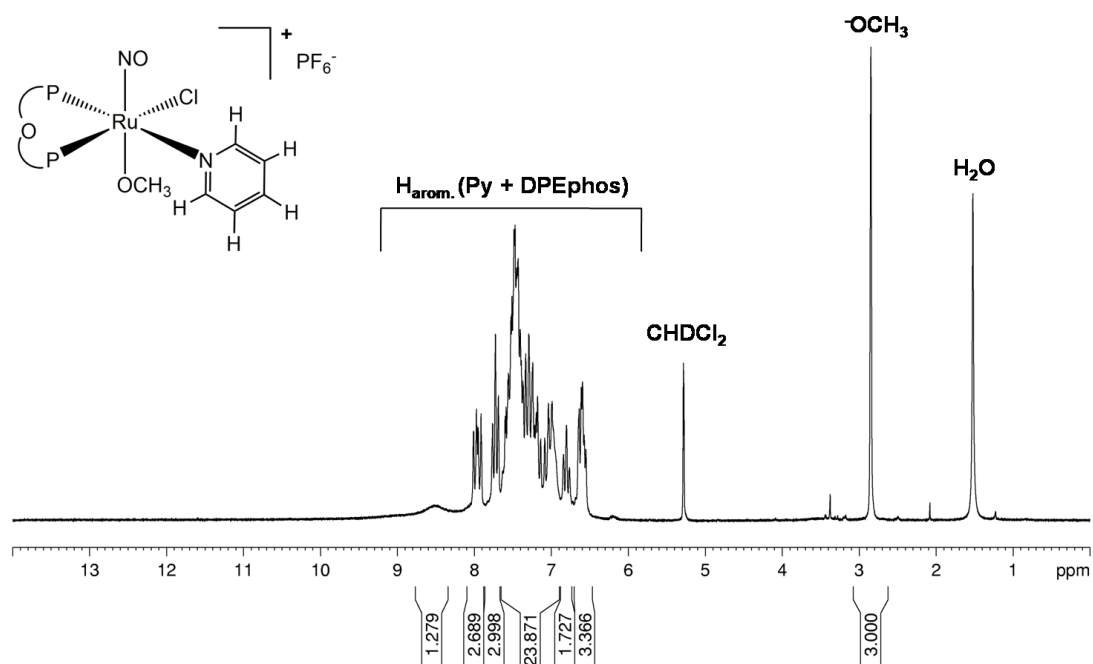


Figura 27: Espectro de RMN de ^1H em CD₂Cl₂ para o complexo **C1**, obtido em um espectrômetro de 200 MHz (4,7 T).

Analisando o espectro da figura acima, podemos observar a presença de um conjunto de sinais na região entre 6 e 9 ppm, atribuídos aos hidrogênios dos anéis aromáticos presentes nos ligantes DPEphos^[30] e piridina^[51], de forma que a soma deles totaliza 35 e está de acordo com a quantidade de hidrogênios esperada nesta região. Ainda, há um simpleto em 2,86 ppm, referente aos três átomos de hidrogênio do ligante metóxi (OCH₃).^[51]

O tripleto em 5,28 ppm é referente CH₂Cl₂, que é o solvente deuterado utilizado para a obtenção dos espectros, ao passo que o simpleto em 1,52 ppm é referente à molécula de H₂O residual do solvente deuterado.^[51] Estes sinais estão presentes em todos os espectros de RMN de ^1H que serão demonstrados a seguir, de forma que qualquer sinal distinto a estes, serão especificados durante o texto.

O espectro de RMN de ^1H para o complexo *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OCH₃)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(**4-Mepy**)]PF₆, apresentou o mesmo perfil que o espectro da figura anterior, contudo, para este complexo podemos observar a presença de um simpleto em 2,43 ppm que é atribuído aos 3 átomos de hidrogênio presentes no grupamento metil na posição *para* do ligante 4-metilpiridina, além do simpleto referente aos hidrogênios do ligante alcóxido em 2,94 ppm. [51]

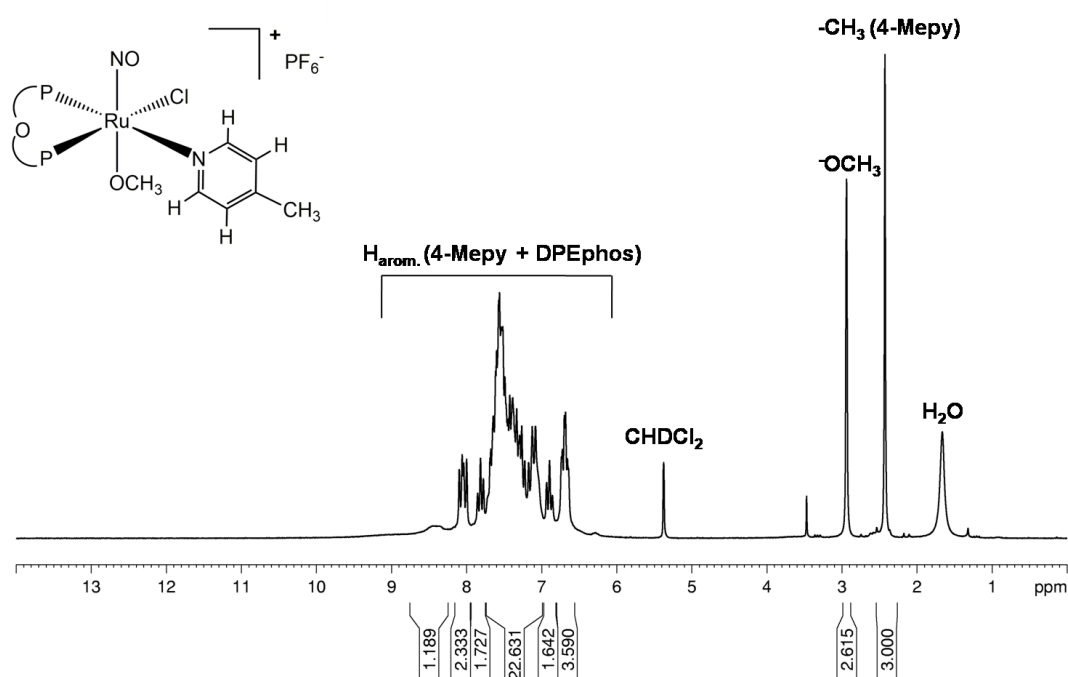


Figura 28: Espectro de RMN de ^1H em CD₂Cl₂ para o complexo **C2**, obtido em um espectrômetro de 200 MHz (4,7 T).

Da mesma forma que o ligante 4-Mepy, o 1-Meim possui três átomos de hidrogênio presentes no grupamento metil ligado a um dos átomos de nitrogênio da molécula deste ligante. Estes hidrogênios equivalentes resultam no espectro de RMN de ^1H , em um simpleto com deslocamento químico de 3,45 ppm, como pode ser visto na Figura 29. Além disso, a molécula de 1-Meim possui três hidrogênios ligados diretamente ao anel e os sinais associados a eles possuem deslocamento químico na região entre 7 e 8 ppm. [51]

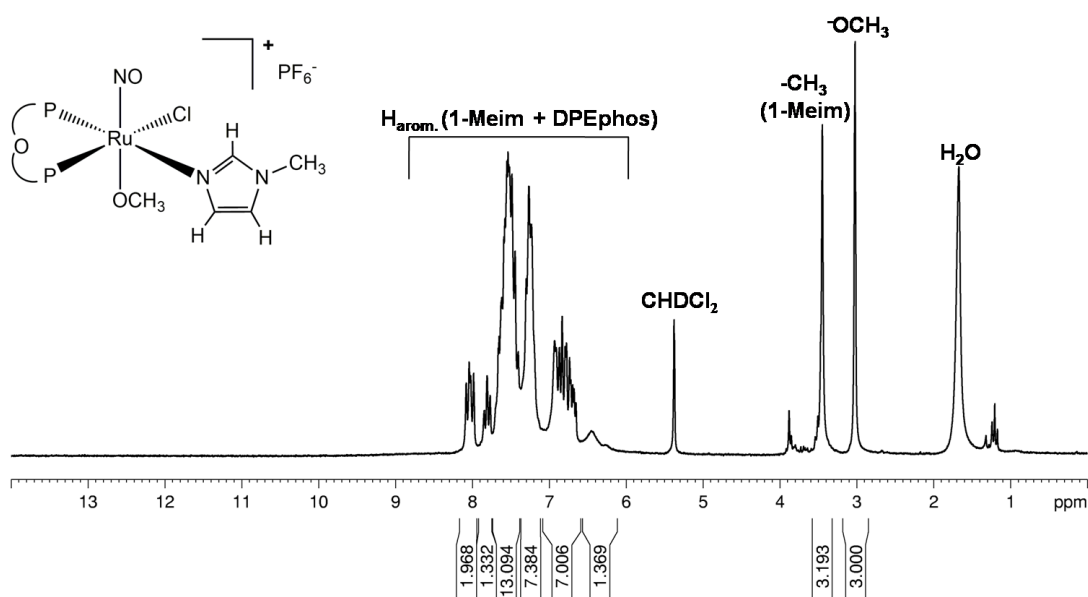


Figura 29: Espectro de RMN de ^1H em CD_2Cl_2 para o complexo **C3**, obtido em um espectrômetro de 200 MHz (4,7 T).

Para o espectro de RMN de ^1H do complexo *trans*(NO,OMe)- $[\text{RuCl}(\text{OCH}_3)(\text{NO})(\kappa^2\text{-P,P'-DPEphos})(1\text{-H-Benzim})]\text{PF}_6$, destaca-se o sinal do átomo de hidrogênio ligado diretamente ao nitrogênio do anel benzimidazólico, com deslocamento químico de 10,2 ppm^[51], como pode ser visto no espectro abaixo:

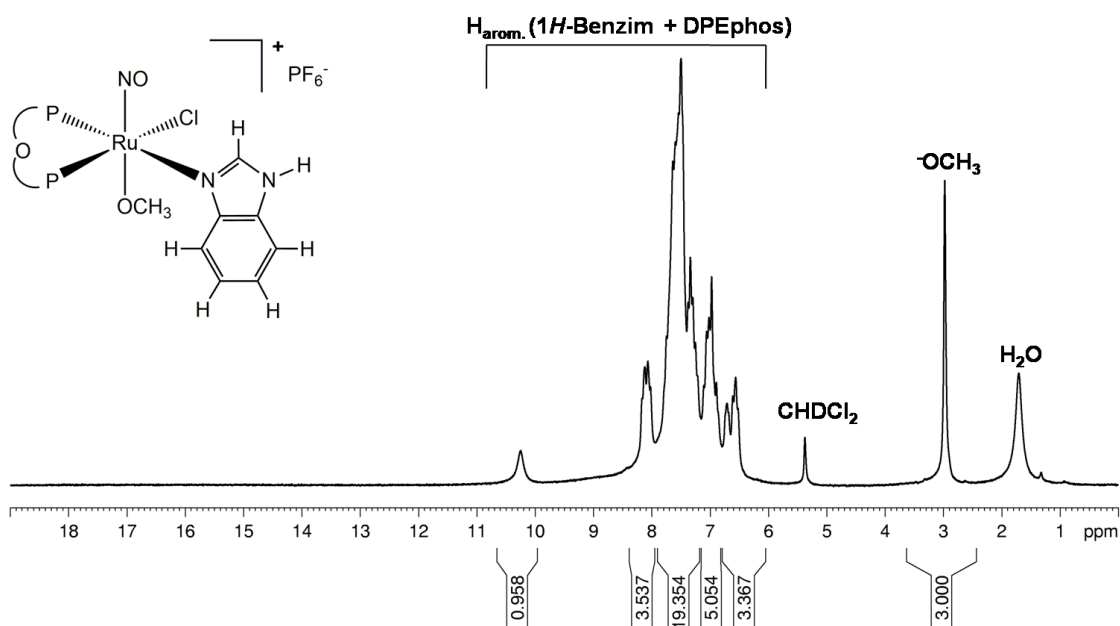


Figura 30: Espectro de RMN de ^1H em CD_2Cl_2 para o complexo **C4**, obtido em um espectrômetro de 200 MHz (4,7 T).

Experimentos de RMN bidimensional (HMBC ^1H - ^{31}P) e de ^1H foram realizados visando à resolução dos sinais atribuídos aos átomos de hidrogênio ligados a anéis aromáticos, bem como demonstrar que o ligante **L** na série de complexos catiônicos, está em posição *trans* a um dos átomos de fósforo do ligante DPEPhos. Desta forma, na Figura 31, pode ser visto o conjunto de espectros de RMN de ^1H do complexo **C2**, obtido em um espectrômetro de 400 MHz (9,4 T) com variação da temperatura, utilizando como solvente o CD_2Cl_2 :

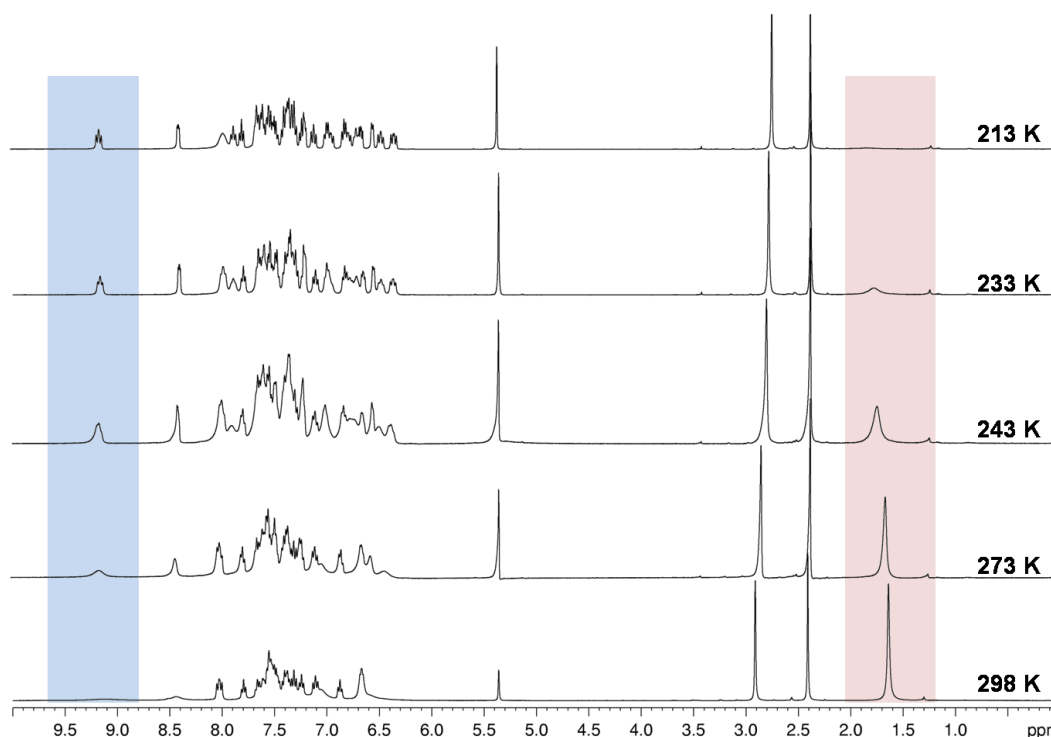


Figura 31: Espectros de RMN de ^1H para o complexo **C2** em CD_2Cl_2 , obtidos em um espectrômetro de 400 MHz (9,4 T), com variação da temperatura.

Analisando os espectros da figura acima, podemos observar que a redução da temperatura promove a resolução dos sinais, como o tripleto destacado em azul na Figura 31, em aproximadamente 9,16 ppm. Ainda, o simpleto em 1,64 ppm, que está hachurado em vermelho, é atribuído à água residual do solvente deuterado, e diminui sua intensidade a partir de 273K, e não é detectável em 213K, uma vez que a água encontra-se congelada nesta temperatura.

A partir do espectro obtido a 213K, foram obtidas as integrais para todos os sinais, de modo que na região compreendida entre 6,0 e 9,5 ppm, totalizou

trinta e dois hidrogênios ligados a anéis aromáticos, ao passo que em 2,74 e 2,37 ppm, o valor da integral foi de três hidrogênios para cada simpleto, referentes ao ligante metóxido e grupamento metila da 4-Mepy, respectivamente. No espectro da Figura 32, encontram-se os valores das integrais, salientados anteriormente:

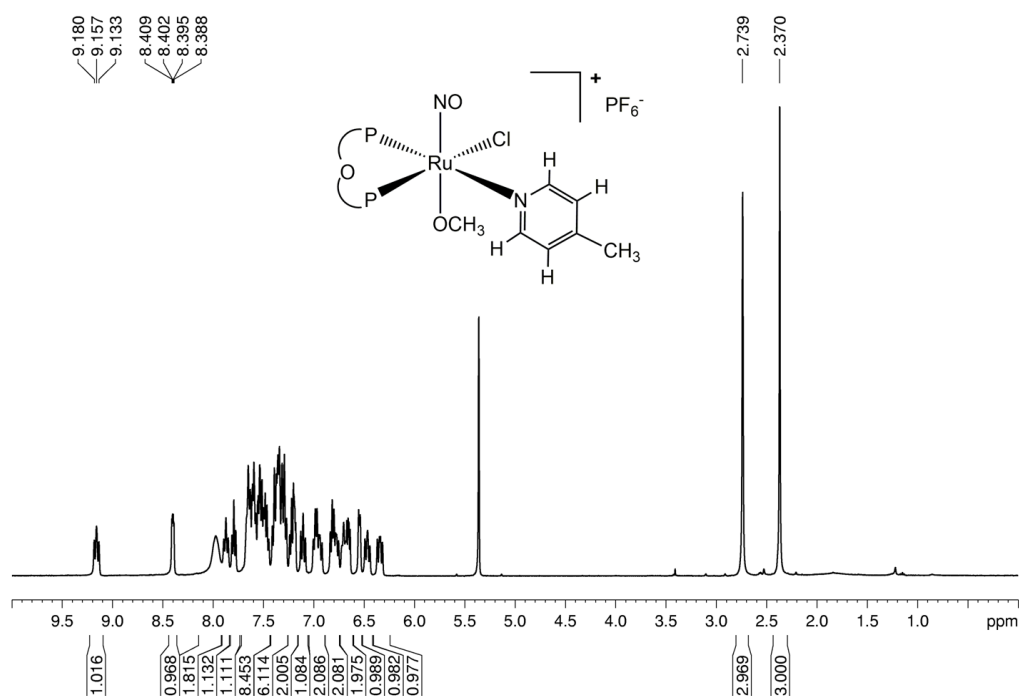


Figura 32: Espectro de RMN de ^1H para o complexo **C2** em CD_2Cl_2 , obtido em um espectrômetro de 400 MHz (9,4 T), a 213K.

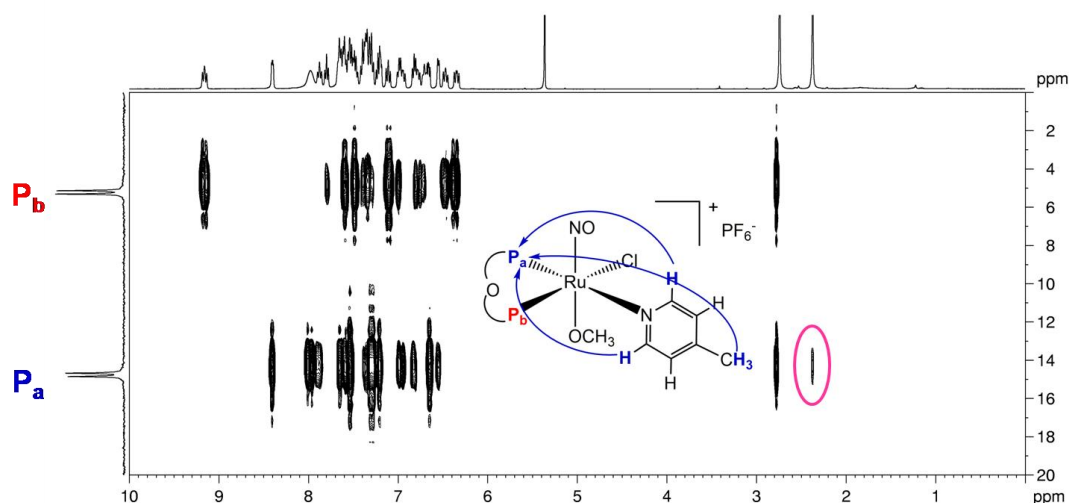


Figura 33: Espectro de HMBC ^1H - ^{31}P do complexo **C2** em CD_2Cl_2 , obtido em um espectrômetro de 400 MHz (9,4 T).

A partir da análise do espectro 2D da Figura 33, observamos uma correlação entre P_a e os sinais atribuídos aos hidrogênios da 4-metilpiridina, comprovando que este sinal mais desprotegido no RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ refere-se ao átomo de fósforo do DPEphos que está em posição *trans* a 4-Mepy. Ainda, pode ser visualizado neste espectro, que existe uma correlação entre os pares de dupletos (referentes a P_a e P_b) e os átomos de hidrogênio do grupamento metil do ligante *N*-heterocíclico.

Estas correlações estão esquematicamente representadas na Figura 34, onde a cor da seta é a mesma adotada para o átomo de fósforo que está acoplando com um dos hidrogênios do ligante 4-Mepy.

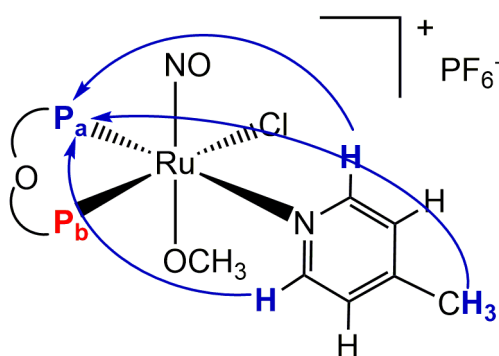


Figura 34: Correlações entre os átomos de fósforo do ligante DPEphos e os hidrogênios da 4-Mepy no complexo **C2**, estabelecidas a partir do espectro de HMBC ^1H – ^{31}P .

Desta maneira, este mesmo raciocínio pode ser utilizado para os demais complexos que possuem os ligantes imínicos *N*-heterocíclicos, uma vez que o comportamento espectroscópico para estes complexos foi similar ao que foi apresentado para **C2**.

No entanto, estudos detalhados envolvendo a análise das interações entre os ligantes entre duas moléculas do complexo, bem como experimentos envolvendo a RMN 2D COSY (^1H – ^1H) estão em andamento.

4.5 Análise Elementar

Na tabela abaixo (Tabela 5), encontram-se reunidos os valores percentuais de carbono, hidrogênio e nitrogênio, obtidos experimentalmente, juntamente com as porcentagens calculadas teoricamente (entre parênteses) com o auxílio do *software Chemdraw Ultra 10.0*, para todos os complexos bisfosfínicos:^[56]

Tabela 4: Percentual de carbono, hidrogênio e nitrogênio para os complexos bifosfínicos.

Complexo	Análise Elementar		
	%C	%H	%N
B1	54,22 (55,72)	3,46 (3,64)	1,75 (1,81)
C1	52,21 (52,54)	3,87 (3,78)	2,85 (2,92)
C2	52,89 (53,01)	3,64 (3,93)	2,86 (2,88)
C3	49,49 (51,13)	3,54 (3,87)	4,87 (4,36)
C4	52,01 (52,89)	3,57 (3,73)	4,96 (4,21)

Como pode ser observado na Tabela 5, os valores referentes à porcentagem de carbono, hidrogênio e nitrogênio estão de acordo com a formulação proposta para o complexo precursor. No entanto, ao compararmos os valores de análise elementar entre o complexo **C1** e o **C2**, podemos notar que o este último possui valor de %C maior do que o primeiro complexo, e isto ocorre devido à presença de um átomo de carbono adicional no ligante 4-mepy.

Da mesma forma que para os complexos analisados anteriormente, esta mesma tendência na variação da porcentagem de átomos de carbono ocorre ao compararmos os complexos contendo os ligantes 1-Meim e 1*H*-benzim. Adicionalmente, estes dois ligantes possuem em sua estrutura dois átomos de nitrogênio, de forma que a %N para os complexos em que eles estão coordenados é maior quando comparada com os complexos que contém ligantes imínicos *N*-heterocíclicos com apenas um átomo de nitrogênio em sua estrutura, como é o caso dos complexos contendo py e 4-mepy.

Portanto, ao compararmos os valores experimentais e teóricos para a porcentagem de carbono, hidrogênio e nitrogênio, para todos os complexos

bifosfínicos preparados neste trabalho, conclui-se que a formulação proposta inicialmente para estes compostos baseada nas caracterizações espectroscópicas apresentadas anteriormente, é sustentada por esta técnica.

4.6 Espectroscopia Eletrônica na Região do UV-Vis

Como pode ser observado nos espectros eletrônicos das figuras a seguir, todos os complexos apresentaram banda na região ultravioleta visível e são muito semelhantes entre si, exceto o espectro referente ao complexo *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(**1H-Benzim**)]PF₆.

Nesse sentido, as atribuições de todas as bandas foram feitas com base em complexos análogos de Ru^{II} contendo ligantes bifosfínicos, *N*-heterocíclicos ou ambos na sua forma livre, encontrados na literatura, e que são sustentadas por cálculos DFT.

Nas figuras a seguir encontram-se os espectros eletrônicos na região UV-Vis obtidos em CH₂Cl₂, na faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-2}$ a $1,0 \times 10^{-6}$ mol·L⁻¹, juntamente com o demarcação do λ (nm) para todas as bandas encontradas:

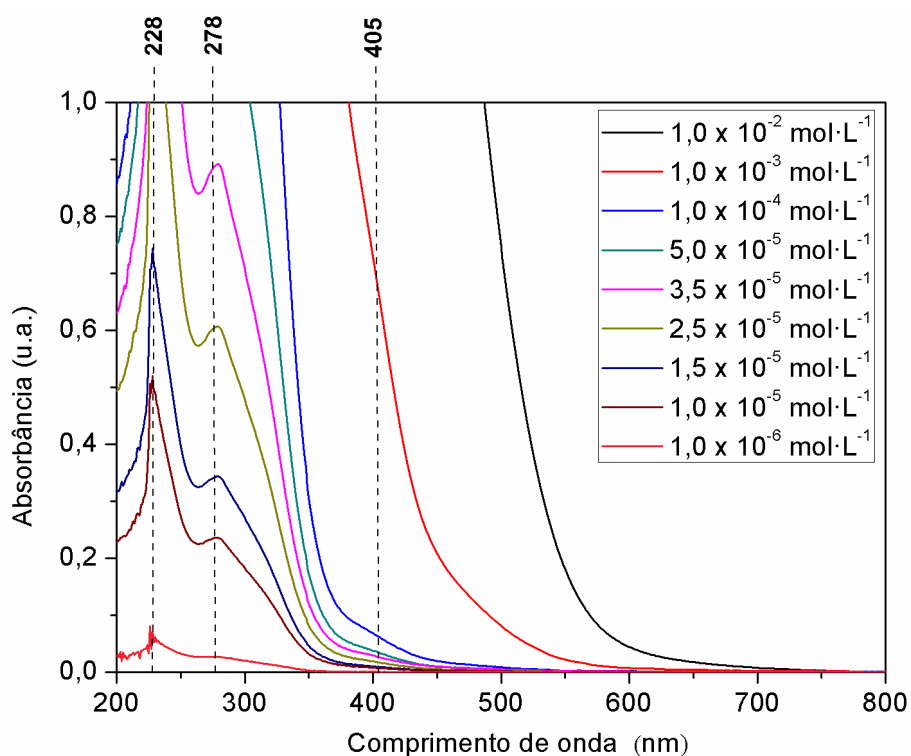


Figura 35: Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o complexo **B1**, em solução de CH₂Cl₂.

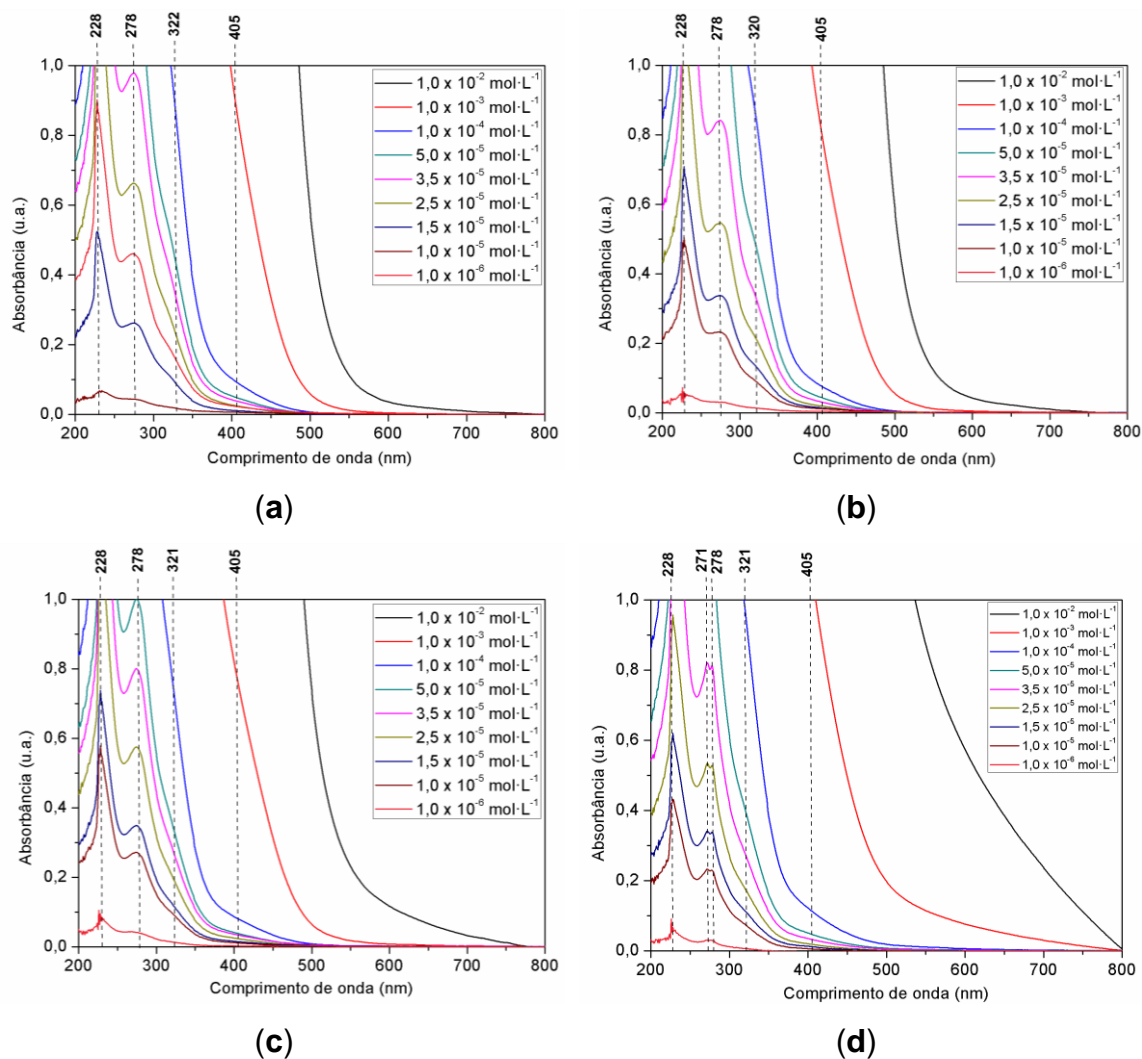


Figura 36: Espectros eletrônicos na região do UV-Vis obtidos em solução de CH_2Cl_2 dos complexos (a) **C1**, (b) **C2**, (c) **C3** e (d) **C4**.

Além disso, os valores de absorvidade molar ($\epsilon / \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) foram calculados para todas as bandas e estão apresentados na tabela seguir:

Tabela 6: Valores de absorvidade molar (ϵ) para todos os complexos sintetizados neste trabalho.

Complexo	$\lambda(\text{nm}); (\epsilon / 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$			
B1	228; (4,09)	278; (2,34)	405; (0,0335)	
C1	228; (4,28)	278; (2,47)	322; (0,973)	405; (0,0881)
C2	228; (4,32)	278; (2,50)	320; (0,983)	405; (0,0747)
C3	228; (3,58)	278; (2,08)	321; (0,747)	405; (0,0776)
C4	228; (4,34)	271; (2,90)	278; (2,85)	321; (0,938)
				405; (0,119)

Analisando os dados apresentados na Tabela 6, juntamente com os espectros das Figuras 35 e 36, atribui-se às bandas de alta intensidade na região ultravioleta com λ igual a 228 e 278 nm e com elevado valor de ε ($\sim 4,12$ e $2,45 \times 10^4 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, respectivamente), as transições do tipo **IL** (transições intraligante), que corresponde às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ dos anéis aromáticos presentes no ligante bifosfínico, para o complexo **B1**, juntamente com as transições referentes ao ligante *N*-heterocíclico nos complexos do tipo *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-PEphos)(**L**)]PF₆. No entanto, quando comparamos os espectros da série de complexos contendo os ligantes *N*-heterocíclicos, observamos a presença de uma banda em 271 nm para o complexo que contém o ligante 1*H*-benzimidazol, que ocorre devido à presença do anel aromático condensando ao anel imidazólico. [56-59]

Adicionalmente, podemos observar um ombro em aproximadamente 321 nm e valor de $\varepsilon \approx 0,9 \times 10^4 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, que pode ser atribuído às transições de transferência de carga ligante \rightarrow metal (**TCLM**). Na literatura, estas transições foram atribuídas por Malecki *et al.*, para complexos análogos *cis*-[RuCl₂(NO)(dppp)(**L**)]PF₆, e são do tipo ($\pi_{\text{Cl}} \rightarrow d / \pi_{\text{Ph}} \rightarrow d / \pi_{\text{L}} \rightarrow d / \pi_{\text{Cl}} + \pi_{\text{Ph}} + \pi_{\text{L}} \rightarrow d / (d + \pi_{\text{Cl}} + \pi_{\text{Ph}} + \pi_{\text{L}}) \rightarrow d$), além de transições interligantes ($(\pi_{\text{Cl}} + \pi_{\text{Ph}} + \pi_{\text{L}}) \rightarrow \pi^*_{\text{NO}} / \pi_{\text{Cl}} \rightarrow \pi^*_{\text{NO}} / (d + \pi_{\text{Cl}} + \pi_{\text{Ph}} + \pi_{\text{L}}) \rightarrow \pi^*_{\text{NO}}$) e uma transição de transição de carga metal \rightarrow ligante (**TCML**) do tipo $d \rightarrow \pi^*_{\text{NO}}$. [60]

Por fim, a banda pouco definida e de baixa intensidade em 405 nm observada em todos os espectros apresentados anteriormente, é atribuída à transição de campo ligante (*d-d*), responsável pela cor amarela dos complexos. O valor de ε nos revela que esta transição é proibida por *spin* e pode ser atribuída, com o auxílio de um diagrama de Tanabe-Sugano para a configuração d^6 (Ru^{II}) (Anexo 1), como sendo: $^3T_1, ^3T_2 \leftarrow ^1A_1$. [61]

4.7 Análise por Espectrometria de Massas

O espectro de massas obtido para o complexo precursor *fac*-[RuCl₃(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)] em *full scan* possui um pico de maior abundância relativa referente a um íon molecular, com razão massa/carga de 740,10, como apresentado na Figura 37.

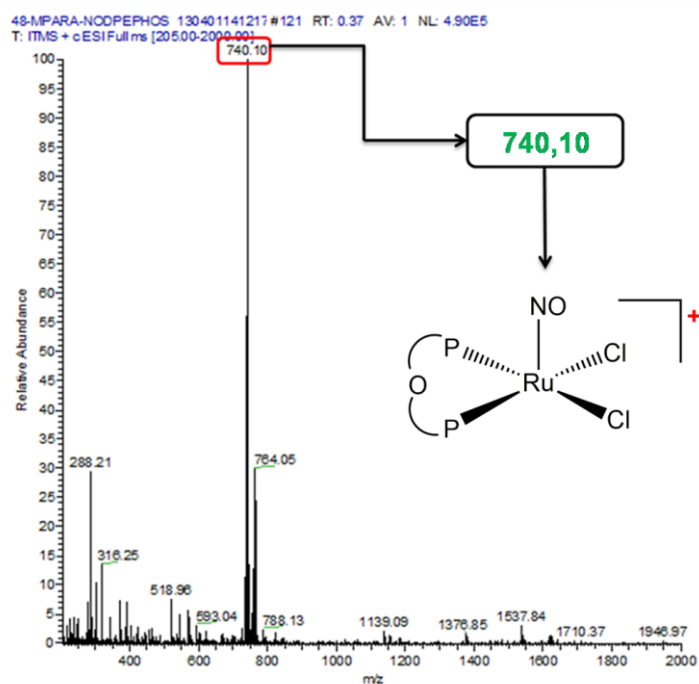
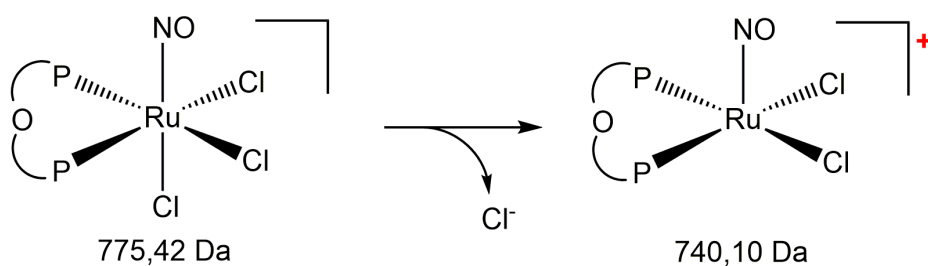


Figura 37: Espectro de massas em *full scan* para o complexo precursor **B1**.

No que diz respeito à reação de fragmentação que levou a formação do produto com massa molar igual aquela obtida no espectro anterior, podemos propor que há a perda do ligante cloro em posição *trans* ao ligante NO^+ , e esta seletividade ocorre porque neste caso, a ligação Ru-Cl é enfraquecida pelo acentuado efeito sinérgico existente entre o cátion nitrosil e o centro de Ru^{II} .^[14]

O produto gerado a partir da fragmentação é um composto monocatiônico, como pode ser visto no Esquema 4.



Esquema 4: Reação de fragmentação para o complexo **B1**.

Portanto, de acordo com esta proposta, o valor do pico de maior abundância relativa está de acordo com a formulação inicialmente sugerida com base nas técnicas de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e análise elemental.

4.8 Medidas de Condutividade Molar

As medidas de condutividade molar (Λ_m) são necessárias para verificar a presença de eletrólitos em solução, onde o valor de Λ_m depende do número de íons presentes e da concentração do eletrólito.^[62] Desta forma, foram preparadas soluções dos complexos, cuja concentração foi de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ em CH_2Cl_2 previamente desaerado, à 25°C. Os valores obtidos para a condutividade estão apresentados na tabela a seguir:

Tabela 6: Valores obtidos para a condutividade molar.

Complexo	$\Lambda_m (\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1})^*$
B1	0,22
C1	58,8
C2	61,1
C3	53,1
C4	26,9

*Valores corrigidos com base na condutividade molar do solvente (CH_2Cl_2), obtido experimentalmente ($\Lambda_m = 0,14 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$).

De acordo com os estudos realizados por Geary^[62] e Velho^[63], a faixa aceita para eletrólitos 1:1 em CH_2Cl_2 à 25°C é de $12 - 77 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Sendo assim, os complexos tratados anteriormente como catiônicos, e que contém na esfera de coordenação interna, um ligante *N*-heterocíclico, apresentados na Tabela 6 estão de acordo com esta faixa, sugerindo e sustentando os argumentos de que houve a formação de um composto catiônico, como discutido anteriormente.

4.9 Análise por Cristalografia de Raios X de Monocristal

A análise por cristalografia de raios X de monocristal do complexo **C1**, confirmou a presença do ligante DPEphos coordenado de forma bidentada ao centro de Ru^{II}, juntamente com os ligantes NO⁺, Cl⁻, py e ⁻OCH₃, além do contra-íon PF₆⁻, como pode ser observado na Figura 38.

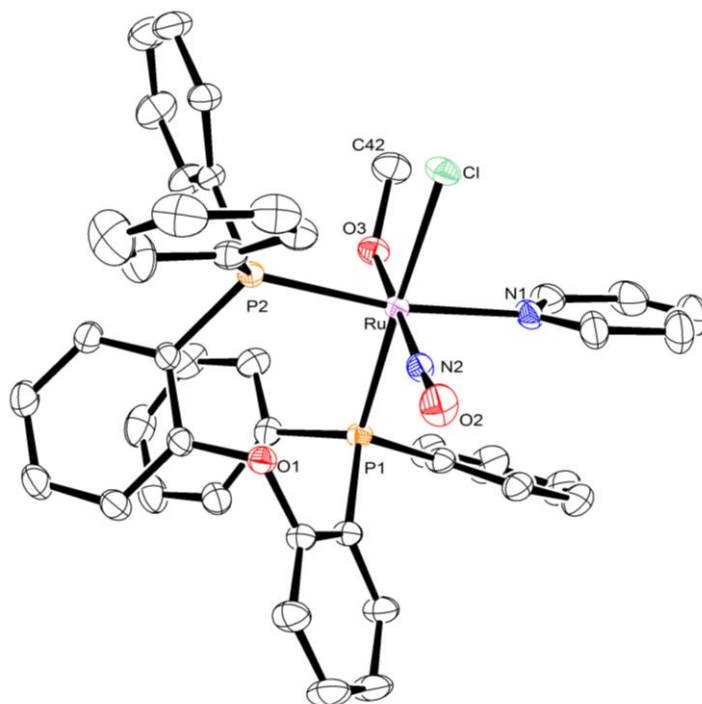


Figura 38: Representação ORTEP do complexo **C1**, com elipsóides com probabilidade de 50%. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para melhor visualização.

Portanto, a disposição dos ligantes neste complexo está de acordo com a formulação proposta pelas técnicas de caracterização discutidas anteriormente e, além disso, os demais complexos da série catiônica apresentaram comportamentos espectroscópicos similares a este complexo, de modo que podemos afirmar que a série catiônica do tipo, *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(L)]PF₆, possui complexos com estruturas análogas a aquela apresentada na Figura 38.

Na tabela 8, estão reunidos os dados cristalográficos e de refinamento estrutural para o complexo **C1**:

Tabela 8: Dados cristalográficos e de refinamento estrutural para o complexo **C1**.

DADOS	Complexo C1
Fórmula molecular	$C_{42}H_{36}ClF_6N_2O_3P_3Ru$
Massa molar ($g \cdot mol^{-1}$)	992,20
Cor	Amarelo
Sistema cristalino	Triclínico
Grupo espacial	P_{-1}
Dimensões da cela unitária	$a = 12,4563 (5) \text{ \AA}$ $b = 13,0115 (6) \text{ \AA}$ $c = 15,0212 (6) \text{ \AA}$ $\alpha = 88,320 (2)^\circ$ $\beta = 72,198 (2)^\circ$ $\gamma = 70,414 (2)^\circ$
Volume da cela (\AA^3)	2176,60 (16)
Cela unitária Z	2
Densidade calculada ($g \cdot cm^{-3}$)	1,514
Temperatura (K)	293
Coeficiente de absorção (mm^{-1})	0,601
F (000)	1008
MoK_α (\AA)	0,71073
Limites de θ ($^\circ$)	$\theta_{max.} = 27,130^\circ$
Fator R	0,0310
wR2	0,0867
S	1,037

A partir da estrutura ORTEP demonstrada na Figura 38, podemos obter as principais distâncias de ligação entre os átomos, bem como os ângulos de ligação para o complexo em estudo. Estes dados estão reunidos na tabela a seguir (Tabela 9):

Tabela 9: Valores das principais distâncias e ângulos de ligação para o complexo **C1**.

Ligação	Distância (Å)	Ligação	Ângulo (°)
Ru-N(1)	2,190	Ru-N(2)-O(2)	176,5(2)
Ru-N(2)	1,748	Ru-O(3)-C(42)	127,6(2)
Ru-P(1)	2,439	Cl-Ru-P(1)	174,62(2)
Ru-P(2)	2,408	P(2)-Ru-N(1)	170,76(5)
Ru-Cl	2,398	P(1)-Ru-P(2)	95,74(2)
Ru-O(3)	1,956	N(2)-Ru-O(3)	176,99(8)
N(2)-O(2)	1,148	C(19)-O(1)-C(14)	114,63(2)
O(3)-C(42)	1,411	P(1)-Ru-N(1)	92,41(5)

Os valores de distância de ligação apresentados na Tabela 9 comprovam a existência da influência *trans* estrutural dos ligantes doadores ou receptores π em posição *trans* aos átomos de fósforo do ligante DPEphos. Desta forma, ao compararmos as distâncias de Ru-P(1) (2,439 Å) e de Ru-P(2) (2,408 Å), concluímos que ocorre a influência inversa àquela esperada, uma vez que a menor distância seria aquela em que o átomo de fósforo está em posição *trans* a um ligante π doador, como é o caso do ligante cloro, ao passo que a maior distância é ocasionada pela presença de um ligante π receptor em posição *trans*, como é o caso do ligante piridina. No entanto, devido à fatores como interação intermolecular via ligação de hidrogênio entre os complexos, por exemplo, podem promover esta inversão.

As distâncias de Ru-P (P *trans* a py), Ru-P (P *trans* a Cl⁻), Ru-NO e Ru-N (N_{py}) são de 2,388(11), 2,396(12), 1,722(4) e 2,216(4) Å, respectivamente, foram relatadas por Golfeto *et al.*, para o complexo análogo *cis*-[RuCl₂(NO)(dppp)(py)]PF₆, de modo que a influência *trans* inversa, discutida anteriormente, também é observada neste complexo. Ainda, o ângulo de ligação entre o centro de Ru^{II} e o ligante nitrosil (Ru-N-O) é de 117,8(4)°, valor muito próximo ao obtido para o complexo **C1**.^[25]

Ainda, ao analisarmos os ângulos de ligação contidos na Tabela 9, observamos que o ângulo entre os átomos de Ru-N(2)-O(2) é de 176,5(2)°, sugerindo que esta ligação é linear. Desta forma, a hipótese discutida a respeito do caráter da geometria desta ligação com base na posição da banda

referente ao $\nu(\text{NO})$ no espectro vibracional do complexo é sustentada com este dado cristalográfico.

O ângulo de $95,74(2)^\circ$, formado entre P(1)-Ru-P(2) é $6,46^\circ$ menor do que o ligante DPEphos livre e esta diferença pode estar associada à distorção da geometria octaédrica causada no complexo ocasionada pelas repulsões das nuvens de densidade eletrônica dos demais ligantes.^[57]

Além disso, o ângulo de $127,6(2)^\circ$, formado entre Ru-O(3)-C(42) está de acordo com o ângulo existente entre o átomo de carbono com hibridização sp^3 , o oxigênio do ligante alcóxido e o rutênio. Nesse sentido, Hirano *et al.*, relatam na literatura o complexo análogo *trans*-[Ru(NO)(OCH₃)(pyca)₂] (pyca = 2-carboxilatopiridina), com distâncias e ângulos de ligação muito próximos àsquelas encontradas neste trabalho, como por exemplo, o ângulo relatado pelos pesquisadores entre o centro de Ru^{II} e o ligante ⁻OCH₃ é igual a $123,6(2)^\circ$, além do ângulo na ligação {Ru^{II}-NO⁺} de $173,3(3)^\circ$.^[45]

4.10 Cálculos DFT para o complexo [RuCl₃(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)]

Com o objetivo de investigarmos a estabilidade e a baixa tendência de isomerização do complexo precursor *fac*-[RuCl₃(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)], bem como a natureza da ligação química existente entre o centro metálico e os seus ligantes, utilizou-se a mecânica quântica como ferramenta, a partir da qual foi possível obter informações a respeito da otimização da geometria e cálculo dos orbitais moleculares para os isômeros *mer*- e *fac*-[RuCl₃(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)].

4.10.1 Otimização da Geometria

A estrutura otimizada, juntamente com as energias relativas para os dois possíveis isômeros do complexo bifosfínico precursor, *fac*- e *mer*-[RuCl₃(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)], estão representados na Figura 39.

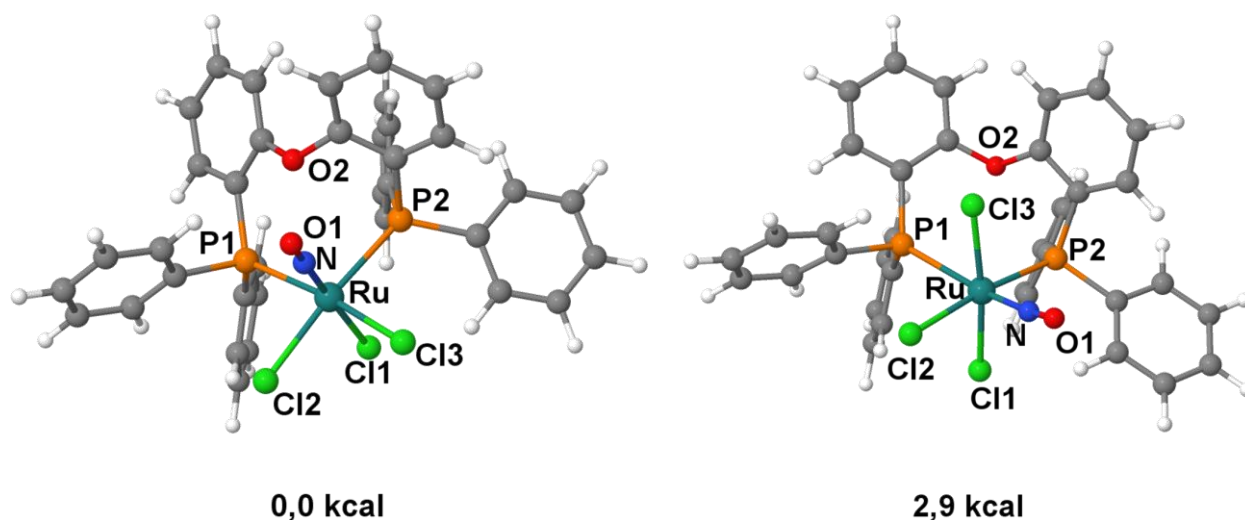


Figura 39: Geometrias otimizadas e energia relativa para os isômeros (a) *fac*- e (b) *mer*- $[\text{RuCl}_3(\text{NO})(\kappa^2\text{-P,P'-DPEphos})]$.

Podemos observar que o isômero representado na Figura 39(a) é aquele com menor energia relativa, de modo que este valor sustenta a proposta estrutural baseada nas técnicas de caracterização experimentais abordadas anteriormente. Nas tabelas 10 e 11 estão reunidos os valores de distâncias e ângulos de ligação, respectivamente, para ambos os isômeros:

Tabela 10: Distâncias de ligação para os isômeros *fac*- e *mer*- $[\text{RuCl}_3(\text{NO})(\kappa^2\text{-P,P'-DPEphos})]$.

Ligação	Distância (Å)	
	<i>fac</i>	<i>mer</i>
Ru-N	1,748	1,757
N-O1	1,152	1,149
N-O2	2,715	-
Ru-P1	2,538	2,633
Ru-P2	2,515	2,510
Ru-Cl1	2,378	2,414
Ru-Cl2	2,434	2,431
Ru-Cl3	2,454	2,441

Tabela 11: Ângulos de ligação para os isômeros *fac*- e *mer*-[RuCl₃(NO)(κ²-P,P'-DPEphos)].

Ligação	Ângulo (°)	
	<i>fac</i>	<i>mer</i>
Ru-N-O1	172,63	165,77
N-Ru-P2	90,23	91,77
N-Ru-Cl3	83,62	85,61
P1-Ru-P2	97,25	97,20
P1-Ru-Cl2	84,03	86,15
Cl1-Ru-Cl2	88,25	87,12
Cl2-Ru-Cl3	88,77	90,07

A estabilidade do complexo apresentado na Figura 39(a), mencionada anteriormente é atribuída à interação existente entre o átomo de N do ligante NO⁺ e oxigênio que compõe o ligante DPEphos, cuja distância de ligação é relativamente baixa com valor de 2,715 Å.

Como salientado no parágrafo anterior, esta distância é capaz de estabilizar o isômero, de modo que após algumas tentativas de fotoisomerização em solução de CH₂Cl₂, não foi possível detectar, por meio experimentos de RMN de ³¹P{¹H}, sinais distintos daqueles demonstrados na Figura 21(a).

No entanto, em um trabalho publicado recentemente pelo nosso grupo de pesquisa, a fotoisomerização do complexo nitrosilado *fac*-[RuCl₃(NO)(P-N)] (P-N = [*o*-(*N,N*-dimetilamino)fenil]difenilfosfina) com energia relativa de 0,4 kcal (no vácuo), leva a formação do isômero *mer*-[RuCl₃(NO)(P-N)] (6,4 kcal, no vácuo). Desta forma, ao compararmos estes dois complexos com aqueles da Figura 39, podemos sugerir que o produto gerado a partir da fotoisomerização do complexo da Figura 39a, não é observável ou a reação não ocorre, pois a barreira energética para este isômero é maior do que para o seu análogo *fac*-[RuCl₃(NO)(P-N)].^[18]

A partir dos dados apresentados nas tabelas anteriores, é possível perceber uma similaridade entre os valores de distâncias e ângulos de ligação obtidos para os isômeros *fac*- e *mer*-[RuCl₃(NO)(κ²-P,P'-DPEphos)] e alguns

complexos análogos encontrados na literatura, cujas medidas foram obtidas a partir de dados de cristalografia de Raios X.

Dentre estes complexos, podemos citar os isômeros *fac*- e *mer*-[RuCl₃(NO)(dppb)] (dppb = 1,4-bis(difenilfosfina)butano), relatados por Von Poelhsitz *et al.* e que foram escolhidos para comparação devido à similaridade no número de membros que compõem o anel quelato formado pelos ligantes bifosfínicos. Desta forma, para o isômero *fac*-[RuCl₃(NO)(dppb)], a distância de ligação Ru-NO é de 1,731(8) Å ao passo que para o *mer*, é de 1,816(5) Å, de modo que ao compararmos estas distâncias com os isômeros da Figura 39, notamos que ambas são muito próximas.^[64]

Ainda, as distâncias referentes aos átomos de fósforo em posição *trans* aos ligantes cloro apresentadas na Tabela 10 e aquelas apresentadas por Von Poelhsitz *et al.* são compatíveis, principalmente a distância entre Ru-Cl₂ (2,434 Å) no isômero *fac*- [RuCl₃(NO)(κ²-P,P'-DPEphos)], que possui exatamente o mesmo valor no complexo *fac*-[RuCl₃(NO)(dppb)], onde um dos átomos de fósforo do ligante dppp está *trans* a um ligante cloro. Adicionalmente, o ângulo formado entre Ru-NO para o isômeros *far* analisado por difração de Raios X foi de 171,8°, valor muito próximo ao obtido pela otimização da geometria do isômero de menor energia relativa demonstrado na Figura 39.^[65]

Adicionalmente, foram encontrados outros complexos análogos, como por exemplo , o *fac*-[RuCl₃(NO)(dppe)] (dppe = 1,2-bis(difenilfosfina)etano) e o *fac*-[RuCl₃(NO)(dppp)] (dppp = 1,3-bis(difenilfosfina)propano), relatados por Zampieri *et al.* e Batista *et al.*, respectivamente, cujas distâncias e ângulos de ligação também foram obtidos por difratometria de Raios X de monocristal e estão de acordo com os valores demonstrados nas Tabelas 10 e 11.^[66, 67]

Tendo em vista que os dados obtidos por meio do cálculo teórico estão condizentes com aqueles obtidos experimentalmente para complexos análogos, podemos correlacionar alguns valores de distâncias e ângulos com aqueles encontrados por difração de Raios X de monocristal para o complexo *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ²-P,P'-DPEphos)(py)]PF₆ (Figura 38).

Desta forma, a distância de ligação Ru-NO em ambos os casos manteve-se com valor de 1,748 Å, ao passo que a distância entre os átomos de nitrogênio e oxigênio no ligante NO⁺ foi de 1,152 e 1,148 Å para o *fac*-

[RuCl₃(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)] e para o *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(**py**)]PF₆, respectivamente. Este decréscimo sutil está associado ao efeito *trans*, que é provocado pela mudança do ligante π -doador (Cl⁻ ou OCH₃⁻) *trans* ao NO⁺.

4.10.2 Orbitais Moleculares

A partir das Figura 40 e 41, é possível observar a participação dos orbitais atômicos de alguns ligantes nos orbitais moleculares dos isômeros *fac*- e *mer*-[RuCl₃(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)]. Deste modo, é notável para ambos os isômeros, o HOMO (191, 192 e 193 para o *fac*; 193, 194 e 196 para o *mer*) possui participação principalmente dos orbitais *d* do rutênio e dos orbitais dos ligantes cloro.

Além disso, o LUMO (197 e 198, para ambos os isômeros) possui participação predominante dos orbitais π^* do NO⁺.

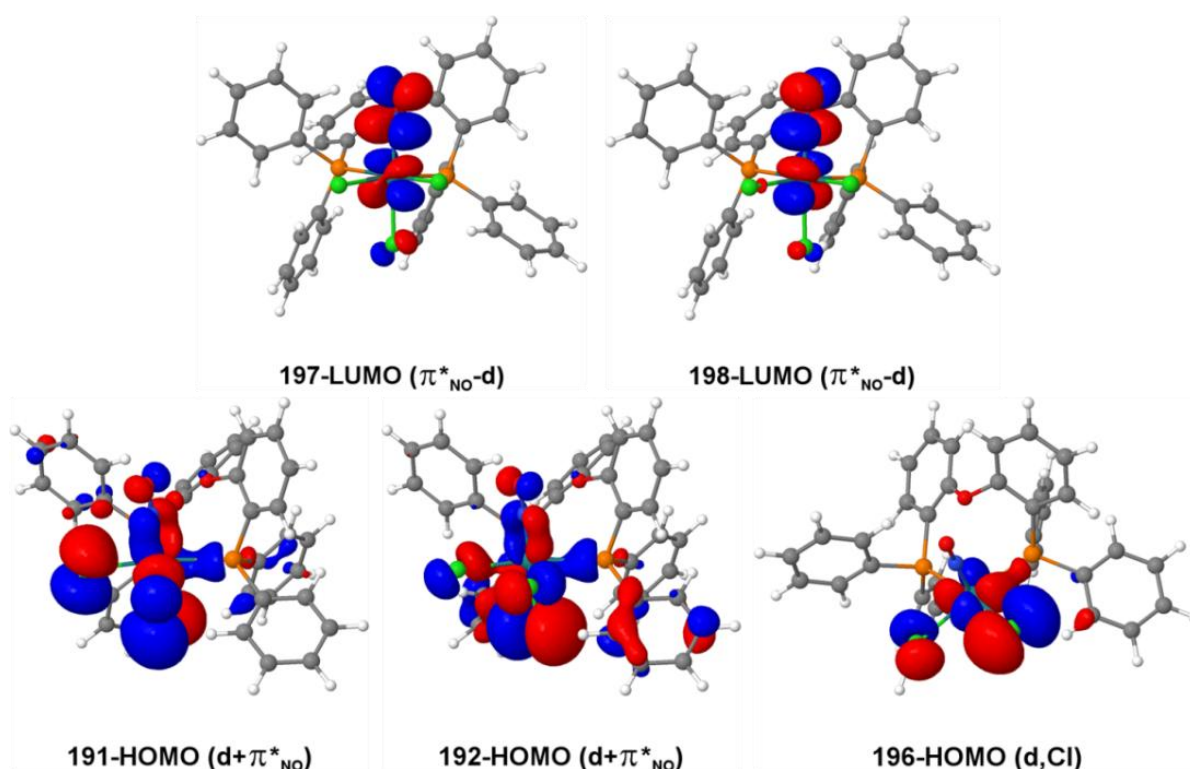


Figura 40: Representação da participação de alguns ligantes no orbitais moleculares do isômero *fac*-[RuCl₃(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)].

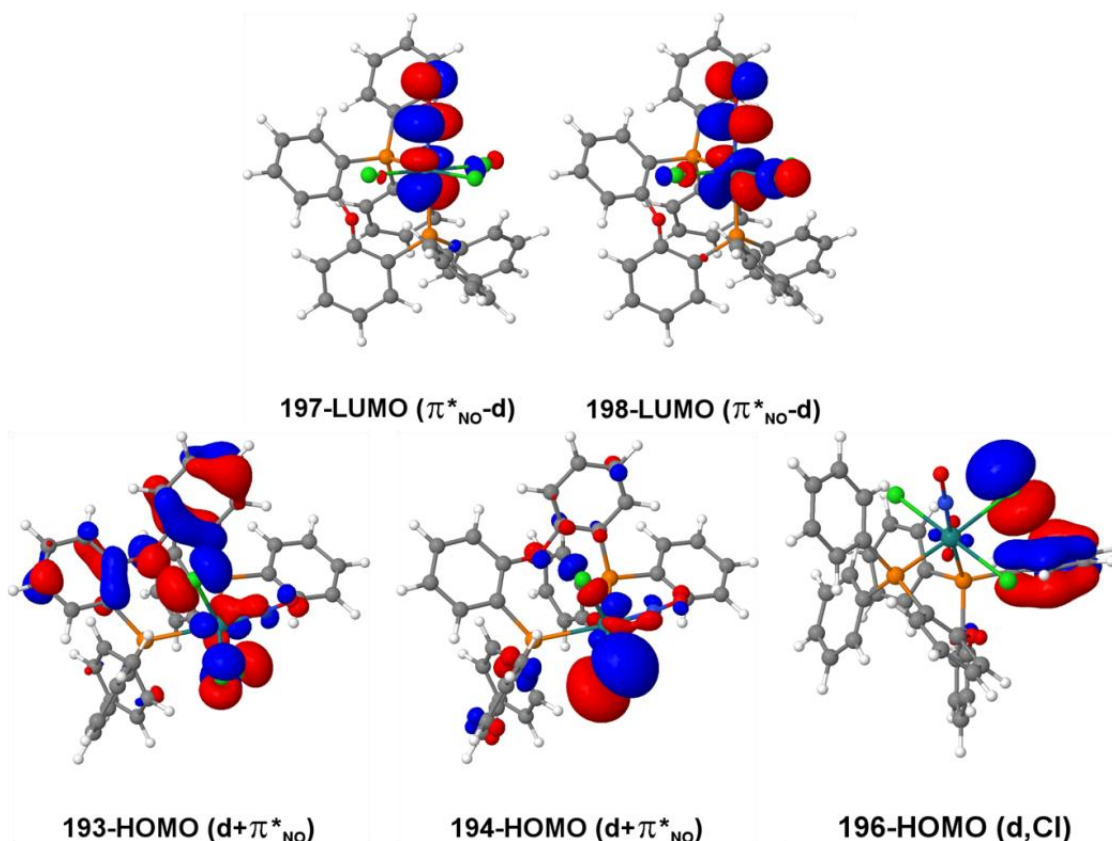


Figura 41: Representação da participação de alguns ligantes no orbitais moleculares do isômero *mer*-[RuCl₃(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)].

4.11 Reação de Oxidação do Ligante *bis*[2-(difenilfosfina)fenil]éter (DPEphos)

Conforme descrito na seção 1.3, o ligante DPEphos foi oxidado na presença de H₂O₂/CH₂Cl₂ e exposição ao ar, a fim de obter a fosfina dioxidada e permitir que os subprodutos detectados na RMN de ³¹P{¹H} durante os estudos de reatividade em dmso, possam devidamente identificados e/ou caracterizados.

Como pode ser visto no espectro de RMN de ³¹P{¹H} da figura abaixo (Figura 42), há o deslocamento do singlete da região negativa do espectro referente à DPEphos na sua forma livre para um simpleto em aproximadamente 25,4 ppm, que é atribuído a este ligante na sua forma dioxidada:

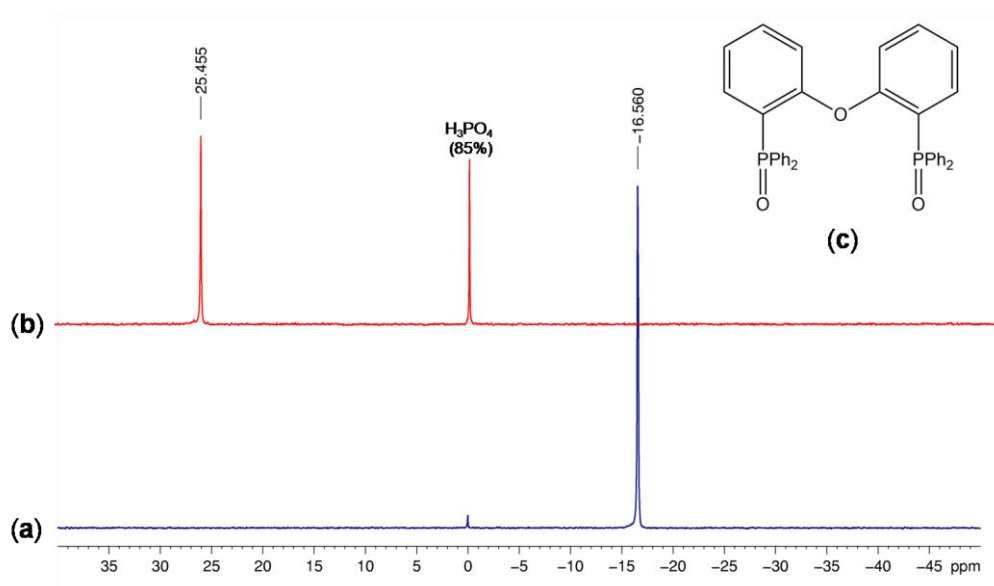


Figura 42: Os espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ comparativos para o DPEphos na sua forma livre (a), após a reação com H_2O_2 em CH_2Cl_2 por 24 horas (b) e em (c), a estrutura proposta após esta reação.

No espectro de infravermelho obtido em pastilha de KBr (Figura 43), destaca-se a banda intensa em 1210 cm^{-1} , atribuída a deformação axial de $\text{P}=\text{O}$, característica de óxidos de fosfina aromáticos, evidenciando a oxidação do DPEphos.^[51] Além disso, podemos observar a presença de outras bandas que estão associadas aos modos vibracionais das demais ligações existentes no composto bifosfínico, que foram atribuídas anteriormente e estão presentes na Tabela 3.

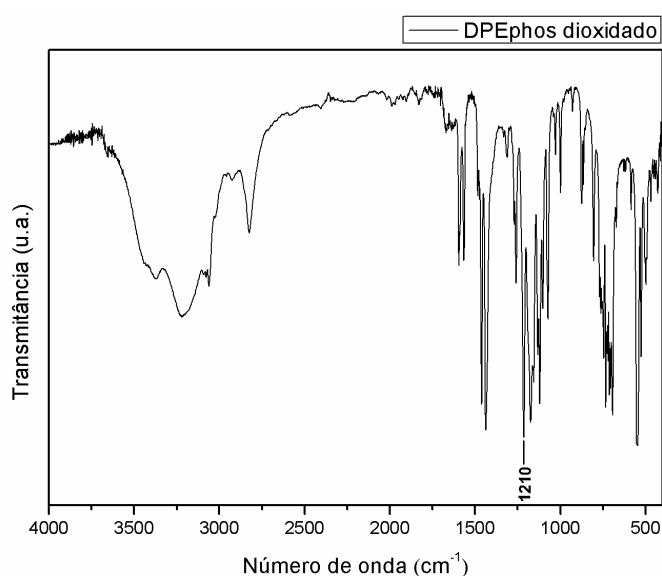


Figura 43: Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante DPEphos dioxidado em pastilha de KBr.

De acordo com o espectro de massas (ESI-MS) demonstrado na Figura 44 a seguir, o pico de maior abundância relativa (571,19 Da) está de acordo com a massa previamente calculada para o composto contendo dois átomos de oxigênios ligados diretamente aos átomos de fósforo. Ainda, podemos observar um segundo pico, com valor de 593,11 Da e que é compatível com a estrutura da DPEphos dioxidada, juntamente com uma molécula de água de hidratação.

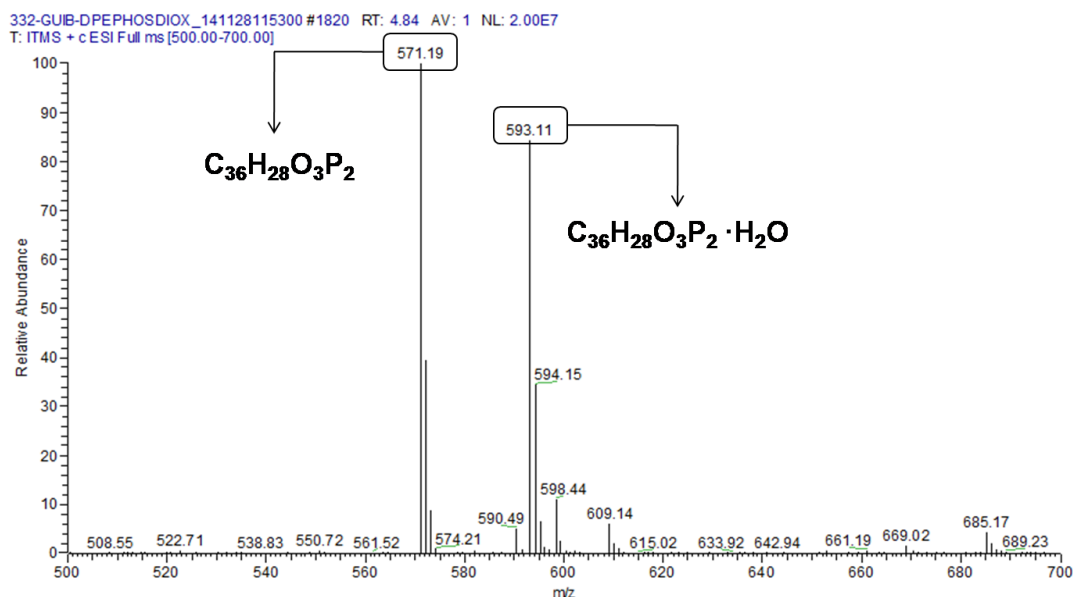


Figura 44: Espectro de massas para o ligante DPEphos dioxidado.

4.12 Testes de Reatividade com dmso

O teste de reatividade de complexos de rutênio (II) frente à dmso é muito importante, visto que na literatura, complexos contendo este reagente como ligante apresentam propriedades medicinais, como é o caso do agente anticancerígeno NAMI-A e do complexo pioneiro visando aplicações biológicas, o *cis*-[RuCl₂(S-dmso)₃(O-dmso)].^[68, 69]

Nesse sentido, os testes de reatividade em dmso do complexo precursor **B1** e da série de complexos catiônicos *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ²-P,P'-DPEphos)(L)]PF₆, foram acompanhados inicialmente por RMN de ³¹P{¹H}, onde o dmso foi utilizado como solvente, juntamente com uma determinada quantidade de complexo, a fim de se obter a concentração de 1,0 x 10⁻² mol·L⁻¹. Desta forma, as análises foram feitas imediatamente após a adição de 500

μL do solvente em um tubo de RMN contendo o sólido previamente pesado e seco, que no espectro da Figura 45 a seguir, será caracterizado como “5 minutos”. Todas as soluções foram mantidas ao abrigo de luz e submetidas a análise por RMN nos tempos de 5 e 30 minutos, 1 e 24 horas após a adição de dmso.

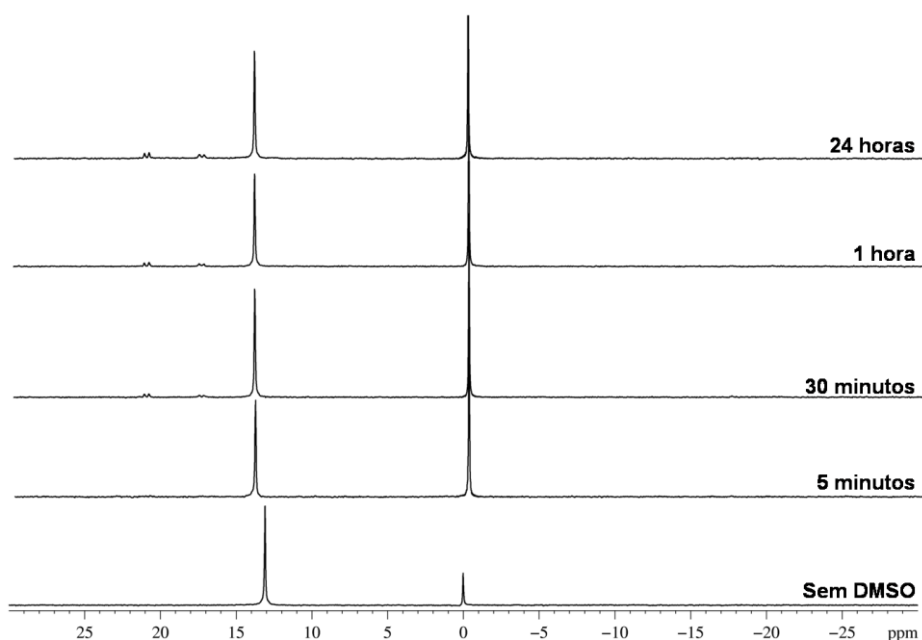


Figura 45: Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo **B1**, obtidos a partir da reatividade em dmso em diferentes tempos.

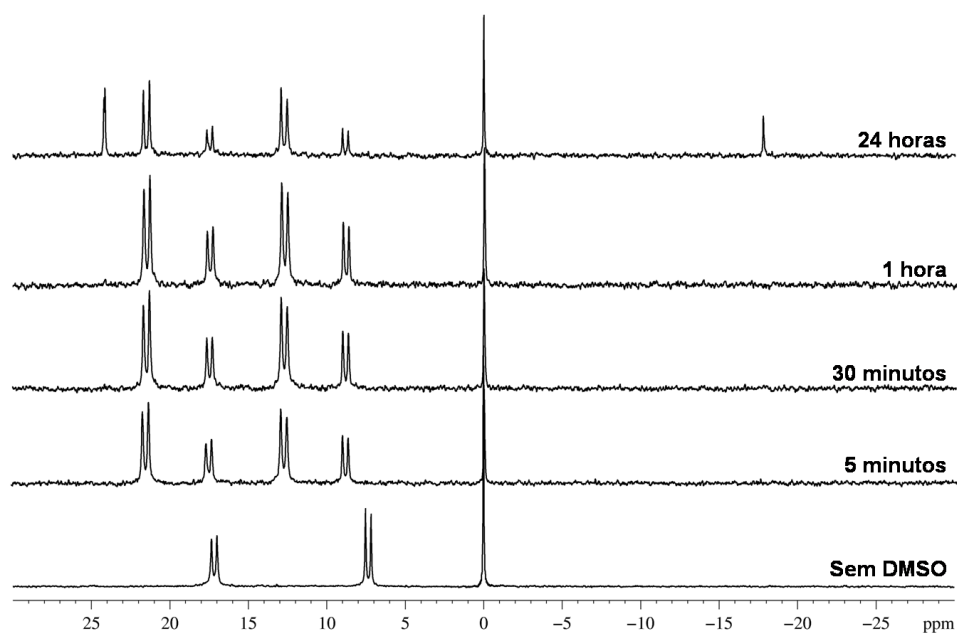


Figura 46: Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo **C1**, obtidos a partir da reatividade em dmso em diferentes tempos.

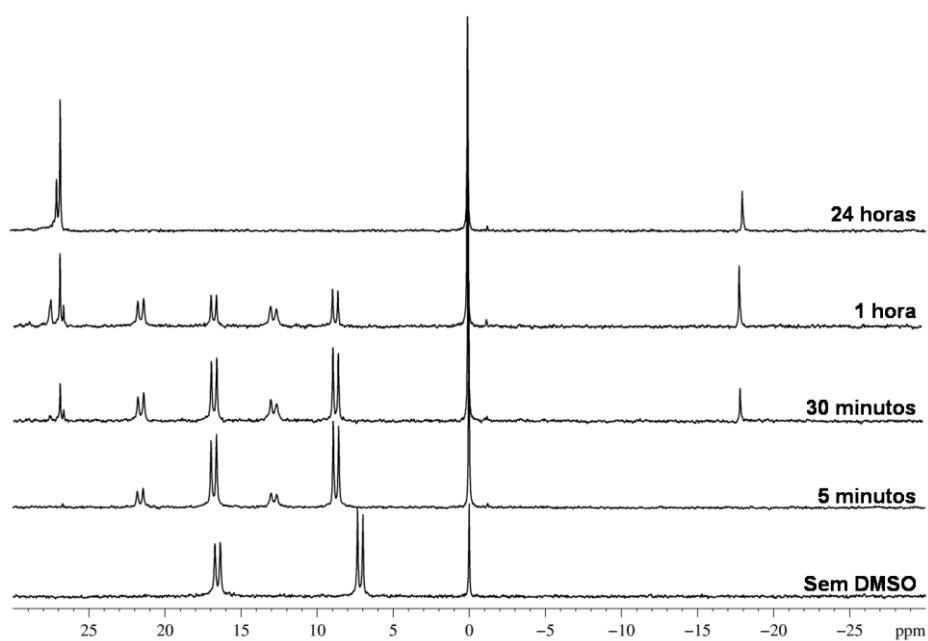


Figura 47: Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo **C2**, obtidos a partir da reatividade em dmsO em diferentes tempos.

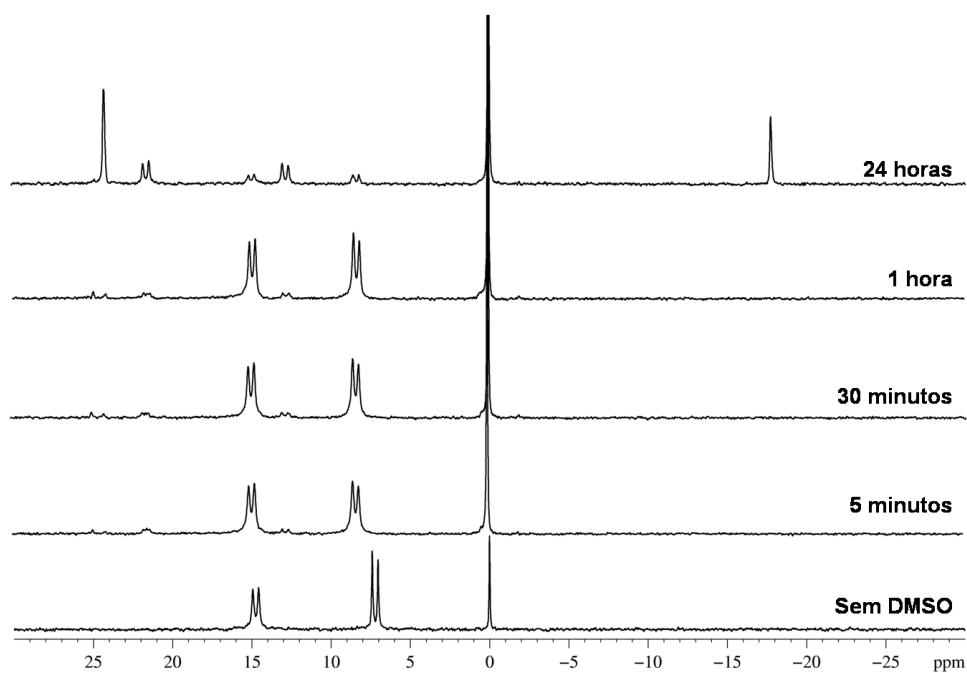


Figura 48: Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo **C3**, obtidos a partir da reatividade em dmsO em diferentes tempos.

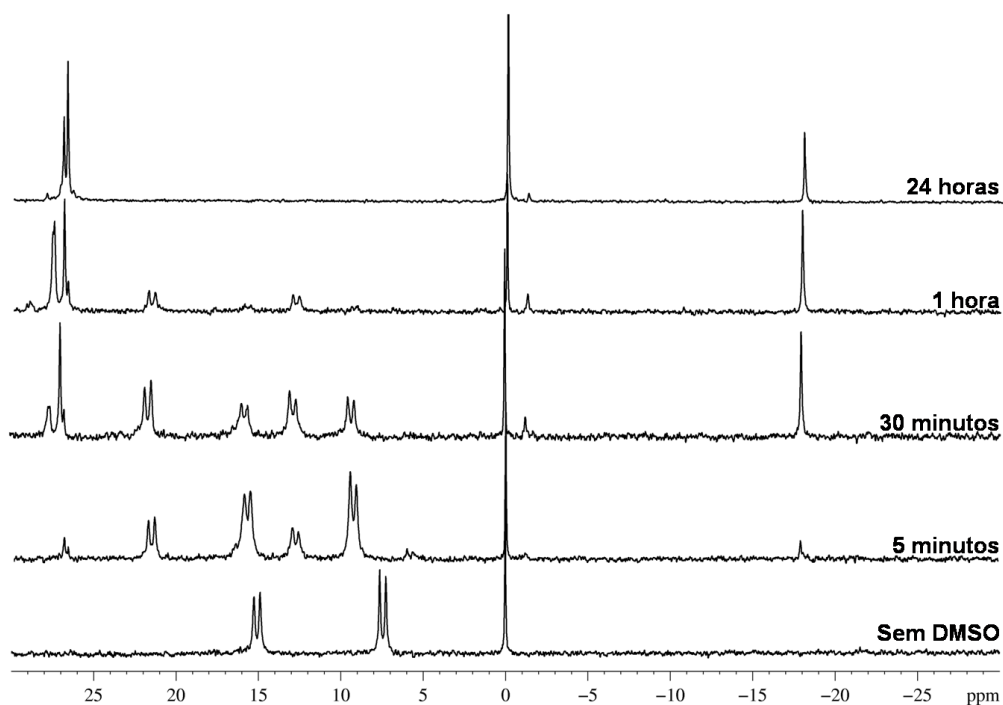


Figura 49: Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo **C4**, obtidos a partir da reatividade em dmsO em diferentes tempos.

Analisando os espectros das figuras anteriores, podemos sugerir que em todos os casos houve alteração na estrutura do complexo imediatamente após a adição de dmsO, com exceção dos complexos **B1** e **C3**.

Nesse sentido, ao analisarmos detalhadamente o espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o complexo **C1** (Figura 46), podemos notar que após 5 minutos de reação, houve a formação de dois pares de dubletos, onde um deles pode ser atribuído ao complexo precursor que não reagiu imediatamente com o dmsO, e o outro, a parcela de complexo que reagiu imediatamente. Na figura abaixo encontra-se a ampliação deste espectro, com os valores de δ (ppm) e $^2J_{\text{P-P}}$ (Hz) para o complexo em questão, após 5 minutos de reação com o solvente:

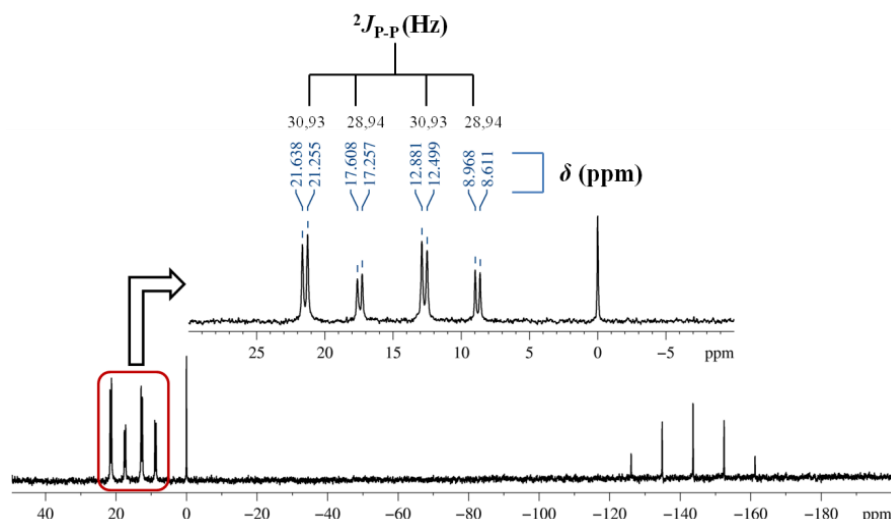


Figura 50: Ampliação do espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o complexo **C1**, após 5 minutos de reação com dmso.

Levando em consideração os valores de δ (ppm) e $^2J_{\text{P-P}}$ (Hz), juntamente com a capacidade coordenante do dmso ao centro de Ru^{II} via átomo de enxofre, uma vez que rutênio (II) é um ácido macio e o enxofre uma base macia de Pearson, podemos propor que as fórmulas estruturais tanto para a espécie formada imediatamente, quanto para o complexo precursor que não reagiu, são aquelas apresentadas na Figura 51.^[70]

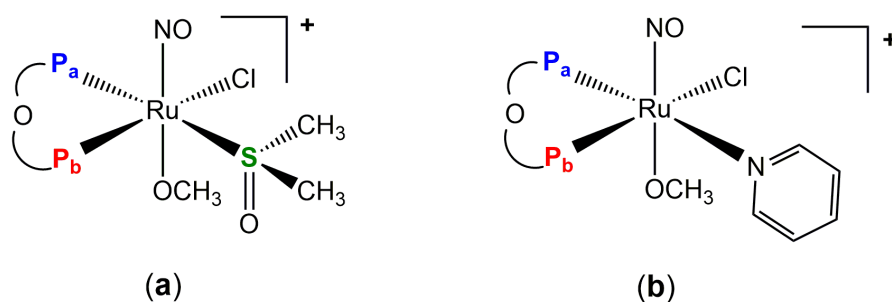


Figura 51: Estruturas propostas para os complexos presentes em solução imediatamente após a adição de dmso, onde (a) é a espécie *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)($\underline{\text{S}}$ -dmso)]PF₆ e (b) **C1**.

Ainda, após 24 horas de reação, houve a formação de um simpleto com δ (ppm) em $\cong -16,6$ ppm para os complexos **C1**, **C3** e **C4**, sugerindo que o ligante DPEphos foi liberado da esfera de coordenação do metal e encontra-se livre em solução (vide Figuras 46, 48 e 49).

Estes comportamentos espectroscópicos descritos para o complexo **C1**, foram observados para todos os complexos da série catiônica, como pode ser visto nas Figuras 45 a 49, indicando que todos os complexos apresentam reatividade quando submetidos à reação com dmsO.

Além disso, a reatividade do complexo **C1** foi acompanhada por RMN de ^1H , utilizando o $\text{dmsO}-d_6$ como solvente, com o objetivo de determinar qual posição na esfera de coordenação este ligante está ocupando.

Desta forma, como pode ser observado no espectro de RMN de ^1H , representado na figura abaixo, o simpleto atribuído anteriormente ao ligante alcóxido é mantido após a adição do solvente, bem como os sinais referentes ao ligante bifosfínico. No entanto, devido à proximidade dos sinais referentes aos hidrogênios ligados aos anéis aromáticos, tanto da fosfina quanto da piridina, não foi possível distingui-los, de modo que podemos propor uma mistura das duas espécies mencionadas anteriormente.

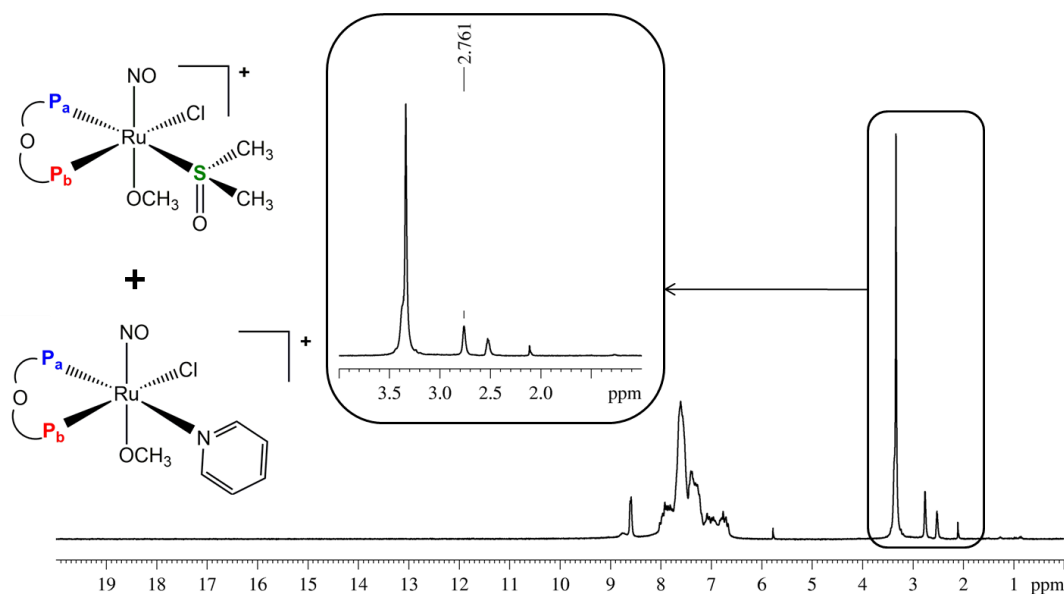


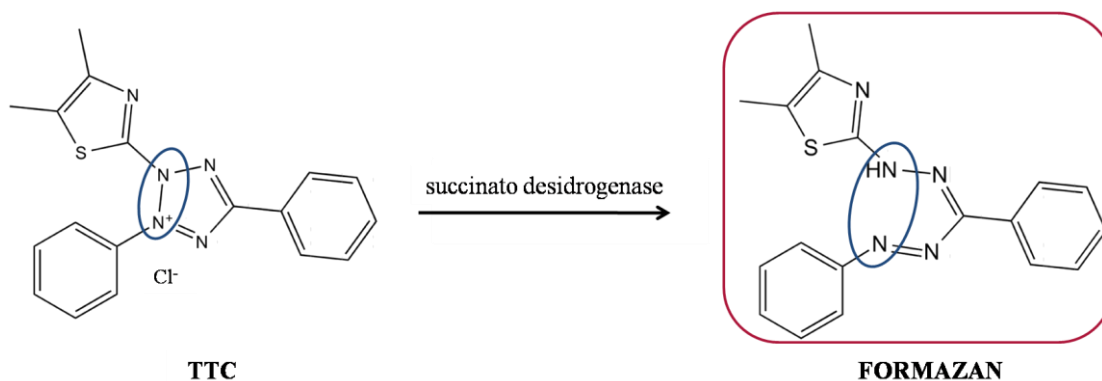
Figura 52: Espectro de RMN de ^1H para o complexo **C1**, após 5 minutos de reação com dmsO.

Tendo em vista a possibilidade de liberação do ligante NO^+ para acomodar o dmsO, foi realizado um experimento de IV-TF, com a mesma solução do complexo analisado por RMN, a fim de observar o deslocamento ou a ausência da banda referente ao estiramento $\nu(\text{NO})$, onde não houve o deslocamento da banda, que permaneceu em 1834 cm^{-1} .

4.13 Ensaios Antibacterianos *in vitro*

Todos os complexos bifosfínicos preparados neste trabalho, bem como os ligantes imínicos *N*-heterocíclicos e o DPEphos, foram submetidos aos testes antibacterianos *in vitro* utilizando cepas de bactérias de *E. coli* (ATCC 25922), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *S. aureus* (ATCC 25932), *S. epidermidis* (ATCC 12228) e *E. faecalis* (ATCC 29212).

Conforme o procedimento descrito na seção 3.2, a atividade antibacteriana foi determinada pelo método da concentração mínima inibitória (MIC), que baseia-se na comparação colorimétrica após a adição do corante TTC (cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio). Este corante é adequado para este método, pois a enzima succinato desidrogenase, presente na mitocôndria da bactéria, promove a quebra do anel tetrazólio e leva a formação de um sal (vermelho) conhecido como Formazan, conforme a reação representada no Esquema 5, a seguir.^[71,72]



Esquema 5: Reação de formação do sal de Formazan a partir do cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC).

No entanto, a grande vantagem da reação esquematizada acima é que ela ocorre apenas nos microorganismos que estão vivos, de modo que a diferenciação entre os compostos que foram capazes de promover ou não a morte microbiana pode ser feita satisfatoriamente. Desta forma, nas imagens da Figura 53 a seguir, estão demonstradas as placas de Elisa contendo cepas de bactérias de *S. aureus* (ATCC 25932), *E. coli* (ATCC 25922) e *E. faecalis* (ATCC 29212), para obtenção do valor de MIC ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$):

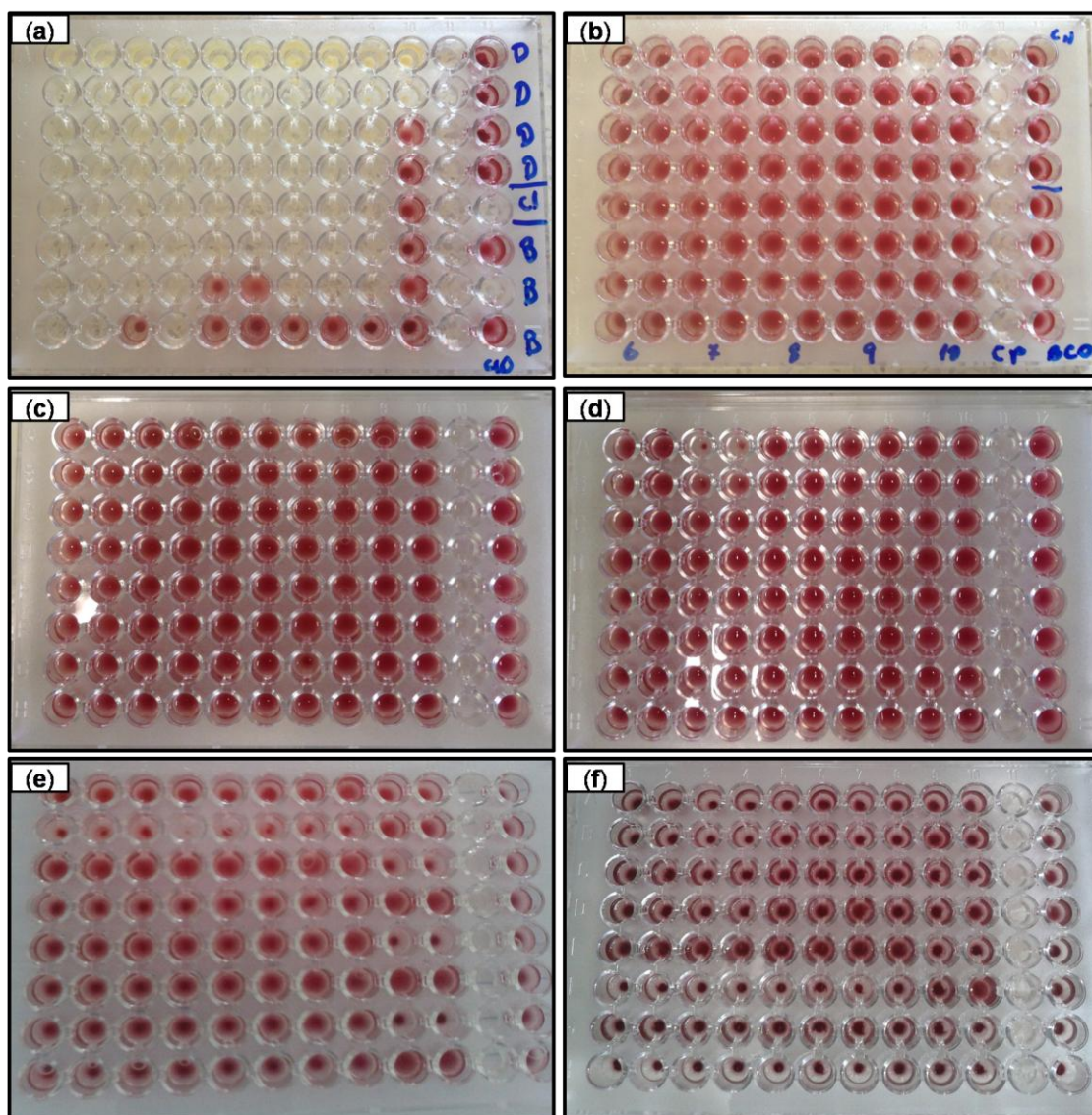


Figura 53: Nas imagens (a) e (b), estão demonstradas as placas de Elisa para os ensaios antibacterianos utilizando cepas de bactérias de *S. aureus* (ATCC 25932), para os complexos (B1, C1 a C4) e para os ligantes (L1 a L5), respectivamente, em (c) e (d), as cepas de *E. coli* (ATCC 25922) e em (e) e (f), as cepas de *E. faecalis* (ATCC 29212).

Após os tempos de 24 e 48 horas de incubação, foram obtidos os valores de MIC ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) com base na formação do sal de Formazan. Foi possível observar que todos os compostos, incluindo ligantes e complexos, apresentaram valor maior que $500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para as cepas Gram-negativas (*E.coli* e *P. aeruginosa*), após os tempos de 24 e 48 horas.

Contudo, como pode ser visto na tabela a seguir, para as cepas Gram-positivas (Tabela 12), os resultados de MIC revelam que os complexos

bifosfínicos preparados neste trabalho são promissores e seletivos quando testados nestas cepas, com exceção do *E. faecalis*:

Tabela 12: Valores de MIC ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) obtidos *in vitro* utilizando cepas de bactérias Gram-positivas.

COMPOSTO	CEPAS GRAM-POSITIVAS					
	MIC ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)					
	<i>S. aureus</i> (ATCC 25932)		<i>S. epidermidis</i> (ATCC 12228)		<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
B1	62,5	62,5	250,0	125,0	>500	>500
C1	16,0	16,0	8,0	8,0	>500	>500
C2	16,0	16,0	16,0	16,0	>500	>500
C3	4,0	4,0	8,0	8,0	>500	>500
C4	8,0	8,0	8,0	8,0	>500	>500
L1	>1000	>1000	>1000	>1000	>500	>500
L2	>1000	>1000	>1000	>1000	>500	>500
L3	>1000	>1000	>1000	>1000	>500	>500
L4	>1000	>1000	>1000	>1000	>500	>500
L5	>1000	>1000	>1000	>1000	>500	>500
L6	>500	>500	>500	>500	>500	>500

Legenda: **L1** = Py; **L2** = 4-Mepy; **L3** = 1-Meim; **L4** = 1*H*-benzim; **L5** = DPEphos livre e **L6** = DPEphos dioxidada.

Desta maneira, quando comparados os valores de MIC obtidos para ambas as linhagem de bactérias, pode-se descartar a possibilidade de atividade antibacteriana dos ligantes utilizados para preparar os complexos, como pode ser visto na Tabela 12 (entradas **L1** a **L6**), bem como nas imagens das Figuras 53**(b)** e 53**(d)**. Ainda, quando submetidas ao controle antimicrobiano (+) de cloranfenicol, todas as bactérias foram mortas, como pode ser visto na coluna 11 das placas da Figura 53. Ao contrário do cloranfenicol, o controle (-) de dmso (6,25% (v/v)) e o branco contendo somente o caldo e o inóculo, não foram capazes de matar as bactérias.

Como mencionado anteriormente, os complexos analisados apresentaram seletividade e boa atividade antibacteriana frente a cepas Gram-positivas, com exceção da *E. faecalis*. Desta forma, os dados apresentados na Tabela 12 para *S. aureus* e *S. epidermidis*, foram plotados em um gráfico (Figura 54) que correlaciona o MIC ($\mu\text{g/mL}$) pela variação de tempo para os complexos.

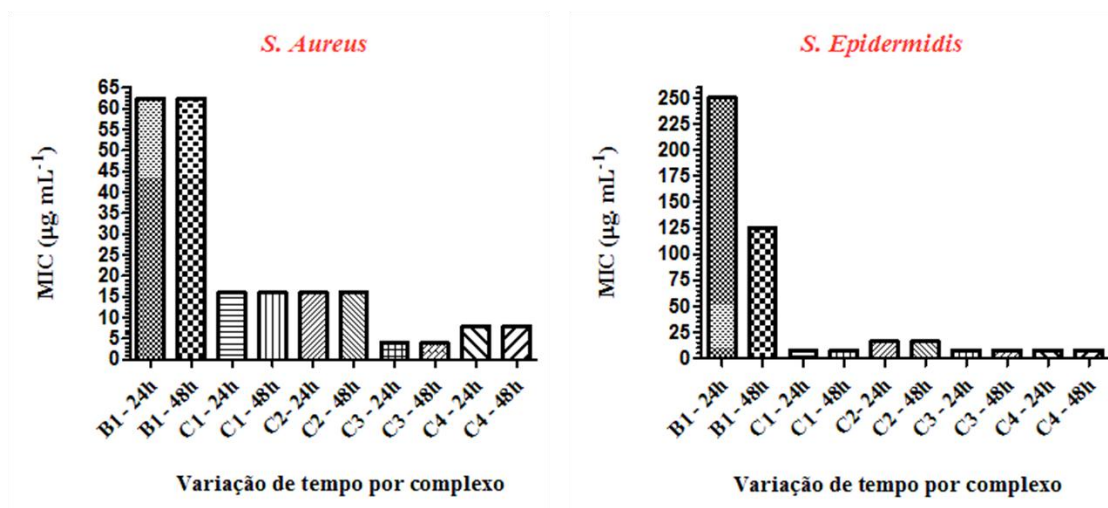


Figura 54: Gráficos de MIC ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) pela variação de tempo para os complexos **B1** e **C1** a **C4**.

Dentre os complexos de destaque, o *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(1-meim)]PF₆, apresentou o menor valor de MIC ($4,0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), para *S. aureus*, após 24 e 48 horas. Além disso, como pode ser observado no espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ da Figura 48, este composto apresentou baixa reatividade em dmso e o ligante 1-meim, assim como o DPEphos, não apresentaram atividade antibacteriana, ou seja, a sua potencialidade está intimamente relacionada ao conjunto [Ru^{II}– Ligantes]⁺.

Com o objetivo de classificar os complexos que apresentaram atividade, em agentes bactericidas (aqueles capazes de matar o microorganismo) ou bacteriostáticos (apenas inibem em um determinado intervalo de tempo o crescimento bacteriano), a metodologia que foi utilizada é aquela descrita detalhadamente na seção 3.2.3 e ilustrada na Figura 55, a seguir.

O experimento revelou que os complexos analisados são agentes bacteriostáticos, ou seja, são capazes de inibir temporariamente o crescimento de novas colônias de microorganismos.

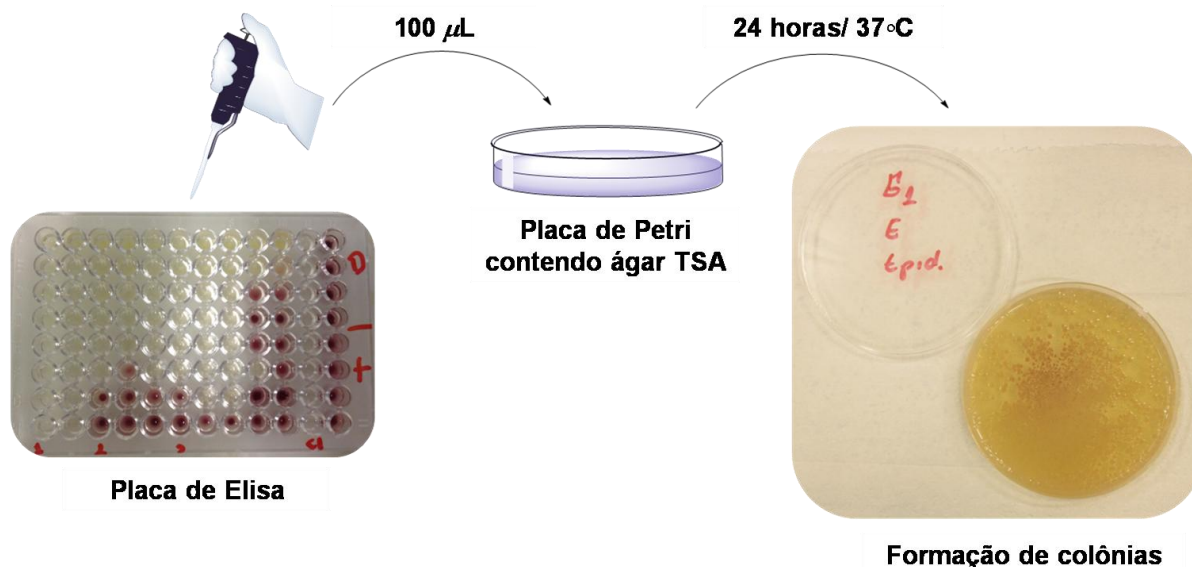


Figura 55: Ensaio para a determinação da atividade bactericida ou bacteriostática dos complexos estudados.

Como salientado em parágrafos anteriores, as cepas de *E. faecalis* apresentaram resistência, pois esta é uma bactéria que sobrevive e se adapta em meios adversos, tais como o trato gastrointestinal e a pele, em organismos humanos. Tendo em vista esta peculiaridade, pode-se justificar a ausência da atividade dos complexos frente a esta bactéria.^[69]

Ao estabelecermos uma comparação entre os complexos de rutênio (II) contendo ligantes *N*-doadores e/ou fosfinas, estudados neste trabalho e alguns que são relatados na literatura com atividade antibacteriana, como é o caso do $[\{\text{Ru}(\text{phen})_2\}_2\{\mu\text{-bb}_{16}\}]^{4+}$ (Figura 6), que apresentou maior valor de MIC ($1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) para *S. aureus*, concluímos que a diferença entre os valores de MIC ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) deste complexo e daqueles apresentados na Tabela 12 são distintos, de modo que os complexos **C3** e **C4** são apontados como os mais promissores dentre aqueles estudados.^[11]

Ainda, os complexos $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$ (phen = 1,10-fenantrolina) e $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^{2+}$ (bipy = 4,4'-bipiridina), foram relatados por Páez *et al.*, por apresentarem boa atividade frente à *S. aureus* com MIC maior do que 1024

$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, para ambos os complexos. No entanto, ao compararmos o valor de MIC entre estes dois compostos e aqueles destacados no parágrafo anterior (**C3** e **C4**), para a mesma cepa de bactéria, notamos que ele é 250 vezes maior para **C3** e 128 vezes para **C4**, em 24 horas. ^[73]

Por fim, a atividade antibacteriana de compostos de coordenação frente a algumas cepas, tais como as de *E.coli* e *S. aureus*, pode estar associada a alguns fatores estruturais, dentre os quais, a capacidade de alguns ligantes em formar anéis quelatos com diferentes centros metálicos. Ainda, a presença de contra-íon em complexos catiônicos e/ou binucleares também podem refletir em complexos com maior atividade. ^[74]

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES

Os complexos precursores, bem como os da série catiônica *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(L)]PF₆ (L= py, 4-Mepy, 1-Meim e 1*H*-Benzim), foram sintetizados adequadamente utilizando as rotas sintéticas apresentadas durante o trabalho, refletindo em bons rendimentos, que puderam ser comprovados por meio dos dados obtidos das técnicas espectroscópicas e analíticas adotadas para a caracterização.

No que diz respeito aos espectros de infravermelho (IV-TF), todos os complexos apresentaram uma única banda simétrica referente ao estiramento $\nu(\text{NO})$, indicando conforme a literatura, que este ligante está coordenado na forma {Ru^{II}—NO⁺}. Além disso, as técnicas de RMN de ³¹P{¹H}, de ¹H e HMBC (¹H—³¹P), demonstraram-se poderosas ferramentas para a elucidação das estruturas de todos os complexos que apresentaram em sua estrutura o ligante bifosfínico DPEPhos.

Na espectroscopia eletrônica na região UV-Vis, todos os complexos apresentaram bandas referentes as transições do tipo **IL** (transições intraligante), que corresponde a transições $\pi \rightarrow \pi^*$, bem como transições de transferência de carga ligante→metal (**TCLM**) e transição de campo ligante (*d-d*).

Para a série de complexos tratados inicialmente como catiônicos, a existência de carga destes foi comprovada pelo teste de condutividade molar (Λ_m) utilizando o CH₂Cl₂ como solvente, e os valores obtidos estão de acordo com a faixa proposta para eletrólitos do tipo 1:1, conforme a literatura. Além disso, para o complexo *fac* -[RuCl₃(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)], o valor obtido para o íon do pico molecular (*m/z*) em ESI-MS, está de acordo com a massa molecular previamente calculada para este complexo.

Os cálculos teóricos obtidos pelo método DFT para o complexo precursor indicaram, pela otimização da geometria, que o isômero complexo *fac* -[RuCl₃(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)], é o mais estável energeticamente. Além disso, quando comparados os valores de distâncias e ângulos de ligação entre estruturas obtidas por difratometria de Raios X de monocristal de complexos análogos encontrados na literatura, notamos que estes dados estão condizentes com aqueles obtidos a partir do cálculo para o complexo **B1**.

Os dados obtidos a partir de difratometria de Raios X de monocristal para o complexo *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(L)]PF₆, estão de acordo com a proposta feita inicialmente a partir das análises por RMN de ³¹P{¹H} e de ¹H.

A reação de oxidação do ligante DPEphos, permitiu o acesso a informações interessantes a respeito do δ (ppm) desta espécie em um espectro de RMN de ³¹P{¹H}, ao avaliarmos a reatividade de todos os complexos bifosfínicos frente à molécula de dmso. Neste sentido, todos os complexos possuem reatividade, indicando que ocorrem modificações estruturais ou até mesmo a saída do ligante bifosfínico DPEphos (base livre ou dioxidado), da esfera de coordenação interna.

Por fim, ao avaliarmos o potencial antibacteriano *in vitro* de todos os complexos bifosfínicos, bem como dos ligantes *N*-heterocíclicos e o DPEphos, observamos que os complexos apresentaram-se promissores quando comparados com compostos encontrados na literatura, como é o caso do *trans*(NO,OMe)-[RuCl(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)(**1-meim**)]PF₆, que apresentou o menor valor de MIC (4,0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), para *S. aureus*, após 24 e 48 horas.

Deste modo, o *design* de novos compostos nitrosilados de rutênio (II) contendo ligantes imínicos *N*-heterocíclicos e fosfínicos, é uma excelente frente de pesquisa visando a investigação de propriedades estruturais, bem como a promissora atividade biológica que esta classe de complexos possui.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

Como perspectivas futuras para o trabalho, têm-se a continuidade da caracterização dos compostos já sintetizados, por meio das técnicas de RMN COSY $^1\text{H} - ^1\text{H}$ (*Correlation Spectroscopy*), Espectrometria de Massas (ESI-MS) para os complexos catiônicos (**C1** a **C4**), além de estudos eletroquímicos.

Realizar cálculos teóricos envolvendo o método da Teoria do Funcional de Densidade (DFT) para os complexos catiônicos, visando a otimização da geometria e obtenção dos orbitais moleculares.

Preparar e caracterizar o complexo *trans*(NO,OMe)-[RuCl₂(OMe)(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)], utilizando as técnicas de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, e de ^1H , IV-TF, Análise Elementar (CHN), Espectroscopia Eletrônica na Região do UV-Vis, Espectrometria de Massas (ESI-MS) e Condutividade Molar. Além disso, realizar testes biológicos *in vitro* para atividade antibacteriana, a fim de comparar os valores de MIC ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) entre este complexo e seu análogo *fac* - [RuCl₃(NO)(κ^2 -P,P'-DPEphos)].

Compõe ainda como perspectiva futura deste trabalho, avaliar a reatividade do ligante NO^+ frente à nucleófilos, tais como o N_3^- , OH^- , bem como realizar a reação de todos os complexos com amálgama de zinco, visando à redução química do NO^+ coordenado e possível liberação de NO^0 . Por fim, avaliar a reatividade do ligante alcóxido ($^-\text{OCH}_3$) na série de complexos catiônicos.

7. REFERÊNCIAS

- [1]. TORTORA, G.J.; *et al.*, **Microbiologia**. Tradução da 10ª ed. Inglesa: Aristóboło Mendes da Silva, *et al.*, Porto Alegre: Artmed, 2012.
- [2]. MURRAY, P.R.; *et al.*, **Medical Microbiology**. 7th edition. Philadelphia: Elsevier, 2013. 1023p.
- [3]. GUERRA, W.; *et al.*, Coordenação de Metais a Antibióticos Como Uma Estratégia de Combate à Resistência Bacteriana, **Química Nova**, 34(1), p. 111-118, 2011.
- [4]. GIELEN, M., R.T.T, EDWARD; **Metallotherapeutic Drugs And Metal-Based diagnostic Agents: The Use Of Metals In Medicine**. England: John Wiley & Sons, Ltd. 2005. 602p.
- [5]. Antimicrobial Resistance. Global Report on surveillance. **World Health Organization (WHO)**. Acesso em 19 de Janeiro de 2015. Disponível em: <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>>.
- [6]. ZHANG, C. X.; LIPPARD, S. J. New metal complexes as potential therapeutics. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 7, n. 4, p. 481-489, 2003.
- [7]. LADEIRA, M.S.P.; SALVADORI, D.M.F.; RODRIGUES, M.A.M.; Biopatologia do *Helicobacter pylori*. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 39, p.335-342, 2003.
- [8]. CHOPRA, I.; The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: a useful development or a cause for concern?. **J. Antimicrob. Chemother.**, v.59, p. 587-590, 2007.
- [9]. SENGUPTA,P.; GHOSH,S.; MAK, T.C.W.; A new route for the synthesis of bis(pyridine dicarboxylato)bis(triphenylphosphine) complexes of ruthenium(II) and X-ray structural characterisation of the biologically active *trans*-[Ru(PPh₃)₂(L¹H)₂] (L¹H₂= pyridine 2,3-dicarboxylic acid). **Polyhedron**, v. 20, p. 975-980, 2001.
- [10]. PANDRALA, *et al.*; Chlorido-containing ruthenium(II) and iridium(III) complexes as antimicrobial agents. **Dalton Transactions**, v. 42, p. 4686-4694, 2013.
- [11]. LEE, J.D., **Química Inorgânica não tão concisa**. Tradução da 5 ed. Inglesa: Henrique Thoma, Koti Araki e Reginaldo Rocha. São Paulo: Blucher, 1999.
- [12]. MCCLEVERTY, J.A., Chemistry of Nitric Oxide Relevant to Biology. **Chemical Reviews**, 104, p. 403-418, 2004.

- [13]. HERBERHOLD, M.; KLEIN, R., $[\text{Fe}_2(\text{NO})_6]^{2+}$, A Binary Nitrosyliron Cation, **Angew. Chem., Int. Ed.**, 17 (6), p. 454-455, 1978.
- [14]. RICHTER-ADDO, G.B. & LEGZDINS, P. *Metal Nitrosyls*, New York: Oxford University Press, 1992. 383p.
- [15]. CALLAHAN, R.W. & MEYER, T.J. Reversible electron transfer in ruthenium nitrosyl complexes. **Inorg. Chem.** 16(3): 574, 1977.
- [16]. ZANICHELLI, P.G.; *et al.*; The effects of ruthenium tetraammine compounds on vascular smooth muscle, **Nitric Oxide-Biology and Chemistry**, 16, p.189–196, 2007.
- [17]. CAVARZAN, D.A., *et al.*, The first P–N containing RuCl_3NO complex: *fac*- $[\text{RuCl}_3(\text{NO})(\text{P}-\text{N})]$ (P–N = [o-(dimethylamino)phenyl]diphenylphosphine). **Inorganic Chemistry Communications**, 9, p. 1247 – 1250, 2006.
- [18]. SILVA, J.P., *et al.*, *fac*-/*mer*- $[\text{RuCl}_3(\text{NO})(\text{P}-\text{N})]$ (P–N = [o-(*N,N*-dimethylamino)phenyl]diphenylphosphine): Synthesis, characterization and DFT calculations. **Inorganica Chimica Acta**, 373, p.8-18, 2011.
- [19]. MCMURRY, J., **Química Orgânica**. Tradução da 7 ed. Norte americana: All Tasks: Cengage Learning, 2012.
- [20]. JOULE, J.A., MILLS, K., **Heterocyclic Chemistry**. 5^a ed. United Kingdom, John Wiley & Sons, 2010. 689p.
- [21]. ALDER, R.W., Strain Effects on Amine Basicities. **Chem. Rev.** 89, p.1215-1223, 1989.
- [22]. GERASIMCHUK, N.N. & BOWMAN-JAMES, K. *Mixed-donor ligands*. Encyclopedia of Inorganic Chemistry. KING, R.B. (Ed.). New York, Wiley Interscience, 1994. p. 2254.
- [23]. FORD, P. C. ; RUDD, D.; GAUNDER, R.; TAUBE, H., Synthesis and Properties of Pentaaminepyridineruthenium(II) and Related Pentaammineruthenium Complexes of Aromatic Nitrogen Heterocycles. **J. Am.Chem. Soc.**, v. 90, p.1187-1194, 1968.
- [24]. WEBB, M.I. *et al.*, Increasing the Bioavailability of Ru^{III} Anticancer Complexes through Hydrophobic Albumin Interactions. **Chem. Eur. J.**, 19, p.17031- 17042, 2013.
- [25]. GOLFETO, C.C. *et al.*, Synthesis, characterization and cytotoxic activities of the $[\text{RuCl}_2(\text{NO})(\text{dppp})(\text{L})]\text{PF}_6$ complexes. **Journal of Inorganic Biochemistry**, 104, p.489-495, 2010.
- [26]. CRABTREE, R. H. **The organometallic chemistry of the transition metals**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2005. 546.

- [27]. GUIRY, P. J.; SAUNDERS, C. P. The development of bidentate P-N ligands for asymmetric catalysis. **Advanced Synthesis & Catalysis**, 346, p.497-537, 2004.
- [28]. COHEN, S. M. New approaches for medicinal applications of bioinorganic chemistry. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 11, n. 2, p. 115-120, 2007.
- [29]. HEWERTSON, W. & WATSON, H.R., The Preparation of Di- and Tri-tertiary Phosphines, **J. Chem. Soc.**, p. 1490 - 1494, 1962.
- [30]. KRANENBURG, M.; et al., New Diphosphine Ligands Based on Heterocyclic Aromatics Inducing Very High Regioselectivity in Rhodium-Catalyzed Hydroformylation: Effect of the Bite Angle. *Organometallics*, 14, p. 3081-3089, 1995.
- [31]. VENKATESWARAN, R.; et al., Ruthenium(II) Complexes Containing Bis(2-(diphenylphosphino)phenyl)Ether and Their Catalytic Activity in Hydrogenation Reactions, **Inorganic Chemistry**, 46, p. 809 – 817, 2007.
- [32]. PREGOSIN, P.S., ³¹P and ¹³C NMR studies on metal complexes phosphorus-donors: Recognizing surprises. **Coordination Chemistry Reviews**, 252, p. 2156-2170. 2008.
- [33]. ARMAREGO, W. L. F.; PERRIN, D. D. **Purification of Laboratory Chemicals** 4th Edition. Elsevier, 1997.
- [34]. FRISCH, M. J., **Gaussian Inc.**, Wallingford CT, Gaussian 03, Revision E.01, 2004.
- [35]. BECKE, A.D.; Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange, **J. Chem. Phys.**, 98, p. 5648-5652, 1993.
- [36]. CASIDA, M.E.; Molecular excitation energies to high-lying bound states from time-dependent density-functional response theory: Characterization and correction of the time-dependent local density approximation ionization threshold. **J. Chem. Phys.**, 108, p. 4439-4449, 1998.
- [37]. GODBOUT N., et al.; Optimization of Gaussian-type basis sets for local spin density functional calculations. Part I. Boron through neon, optimization technique and validation, **Can. J. Chem.**, 70, p. 560-570, 1992.
- [38]. SCHAFTENAAR, G., NOORDIK, J.H.; Molden: a pre- and post-processing program for molecular and electronic structures, **J. Comput. Aided Mol. Des.**, 14, p. 123-133, 2000.
- [39]. **Jmol**: an open-source Java viewer for chemical structures in 3D.

Disponível em: < <http://www.jmol.org/>>.

- [40]. Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Acesso em 11 de Novembro de 2014. Disponível em: < http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/boas_praticas/modulo5/introducao.htm>.
- [41]. CLSI. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Ninth Edition**. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
- [42]. J.M. FLETCHER; I.L. JENKINS; F.M. LEVER; *et al.*, Nitrate and Nitro Complexes of Nitrosylruthenium, **J. Inorg. Nucl. Chem.**, 1, p. 378-401, 1955.
- [43]. COE, B., *et al.*; Synthesis and structures of ruthenium(II) mono[1,2=phenylenebis(dimethylarsine)] complexes : precursors to trans metal-to-ligand charge-transfer chromophoric assemblies. **Polyhedron**, 97, p. 1997-2007, 1998.
- [44]. HINARO, T., *et al.*, *Cis-trans* isomerization of {RuNO}⁶-type nitrosylruthenium complexes containing 2-pyridinecarboxylate and structural characterization of a μ -H₃O₂ bridged dinuclear nitrosylruthenium complex. **J. Chem. Soc., Dalton Trans.**, p. 2158 - 2162, 2002.
- [45]. HINARO, T., *et al.*, Reactions of [RuCl₂(NO)(terpy)]⁺ (terpy = 2,2': 6',2"-terpyridine) with mono anions such as NO₂⁻, Br⁻ and N₃⁻, and structural studies on terpyridineruthenium having a nitrosyl ligand **J. Chem. Soc., Dalton Trans.**, p. 2341 - 2345, 2001.
- [46]. GOLFETO, C.C., *Dissertação de Mestrado*. Programa de Pós-Graduação em Química-UFSCar: p.29, 2008.
- [47]. PELL, S. & ARMOR, J.N. Preparation and Characterization of a New Series of *Cis* Nitrosylruthenium Complexes. **Inorganic Chemistry**, 12 (4), p. 873-877, 1973.
- [48]. AULLON, G., ALVAREZ, S., CAO, R., *et al.*, Substitution of chloride by nitrosyl ligand in a scorpionate ruthenium (III) compound: A theoretical study. **Inorganica Chimica Acta**, 362, p. 4651-4658, 2009.
- [49]. MISTRY, B.D., *A Handbook of Spectroscopy Data Chemistry (UV, IR, PMR, ¹³C NMR and Mass Spectroscopy*. Oxford Book Company. 2009. 247p.

- [50]. NAKAMOTO, K.; *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*. 4^a ed. New York, John Wiley & Sons, 1986. 484p.
- [51]. SILVERSTEIN, R.M., WEBSTER, F.X., **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**, 6^a ed. LTC Livros Técnicos e Científicos, Rio de Janeiro, 2000.
- [52]. CHANDRAN, K., *et al.*; Synthesis and characterization of sodium alkoxides. **Bull. Mater. Sci.**, 29 (2), p. 173-179, 2006.
- [53]. GUNTHER, H. *NMR Spectroscopy: Basic Principles, Concepts and Applications in Chemistry*. 2nd ed. New York, John Wiley & Sons, 1996. 602p.
- [54]. VERKADE, J.G. & QUIN, L.D. *Phosphorus – ³¹NMR Spectroscopy in Stereochemical Analysis – Organic Compounds and Metal Complexes*. 1^a ed. VCH Publishers, Deerfield Beach, 1987. 717p.
- [55]. SILVA, J.P., *Dissertação de Mestrado*. Programa de Pós-Graduação em Química-UFPR: p.27, 2011.
- [56]. MILLS, N. ChemDraw Ultra 10.0 CambridgeSoft, 100 CambridgePark Drive, Cambridge, MA 02140. www.cambridgesoft.com. Commercial Price: \$1910 for download, \$2150 for CD-ROM; Academic Price: \$710 for download, \$800 for CD-ROM. **Journal of the American Chemical Society**, v. 128, n. 41, p. 13649- 13650, 2006.
- [57]. ASLANIDIS, P., COX, P.J., TSIPIIS, A.C., Structural and electronic properties of luminescent copper(I) halide complexes of bis[2-(diphenylphosphano)phenyl] ether (DPEphos). Crystal structure of [CuCl(DPEphos)(dmpymtH)], **Dalton Transactions**, 39, p.10238-10248, 2010.
- [58]. RABIGER, D.J., JOULLIÉ, M.M., The Ionization Constants, Ultraviolet and Infrared Spectra of Some Substituted Benzimidazoles, **J. Am. Chem. Soc.**, 69, 1091, 1947.
- [59]. JOULE, J.A., MILLS, K., **Heterocyclic Chemistry**. 5^a ed. United Kingdom, John Wiley & Sons, 2010. 689p.
- [60]. MALECKI, J.G.; JAWORSKA, M.; KRUSZYNSKI, R., Synthesis, Molecular, Crystal and Electronic Structure of [RuCl₃(NO)(PPh₃)(HPz)]. *Polyhedron*, v.24(2), p. 359, 2005.
- [61]. BORGES, S.S.S., *et al.*, Ruthenium Nitrosyl Complexes with N-heterocyclic Ligands. **Inorg. Chem.**, 37 (11), 2670, 1998.
- [62]. GEARY, W.J., The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterization of coordination compounds, **Coordination Chemistry Reviews**, 7(1), p.81-122, 1971.

- [63]. VELHO, R.G., *Dissertação de Mestrado*. Programa de Pós-Graduação em Química-UFSCar: p.60, 2006.
- [64]. KEPPLER, B.K., *et al.*, New tumor-inhibiting metal complexes. **Cancer Treatment Reviews**, 1990. **17**(2–3): p. 261-277.
- [65]. VON POELHSITZ, G., *et al.*; *fac*-[RuCl₃(NO)(dppb)] (I) and *mer*-[RuCl₃(NO)(diop)] (II) complexes: syntheses, characterization and X-ray structures. **Polyhedron**, 21, p. 2221-2225, 2002.
- [66]. ZAMPIERI, R.C.L., *et al.*; Syntheses, characterization and X-ray structures of the *fac*-[RuCl₃(NO)(dppe)] and the *trans*-[RuCl(NO)(dppe)₂]²⁺ species. **Journal of Inorganic Biochemistry**, 92, p. 82-88, 2002.
- [67]. BATISTA, A.A., *et al.*; Nitrosyl ruthenium complexes with general formula [RuCl₃(NO)(P-P)] (P-P = {PPh₂(CH₂)_nPPh₂}, n = 1-3 and {PPh₂-CH=CH-PPh₂}). X-ray structure of [RuCl₃(NO){PPh₂(CH₂)₃PPh₂}]. **Polyhedron**, 16 (6), p.927-931, 1997.
- [68]. TOMA, H.E., SILVA, D.O.; Propriedades e Importância dos Sulfóxidos de Rutênio, **Química Nova**, 16(1), p.40-48, 1993.
- [69]. TACCONELLI E.; CATALDO M.A., Vancomycin-resistant enterococci (VRE): transmission and control. **Int J Antimicrob Agents**, v.31, p. 99-106, 2008.
- [70]. SHRIVER, D.F., *et al.*; **Química Inorgânica**. Tradução Roberto de Barros Faria. 4 ed. Porto Alegre: Bookman, 2008.
- [71]. NINEHAN, A.W.; The Chemistry of Formazans and Tetrazolium Salts, **Chem. Rev.**, 55(2), p.355-483, 1955.
- [72]. MOUSSA, S.H., *et al.*; Tetrazolium/Formazan Test as an Efficient Method to Determine Fungal Chitosan Antimicrobial Activity, **Journal of Mycology**, Article ID 753692, 2013.
- [73]. PAÉZ, P.L.; *et al.*, Oxidative Stress and Antimicrobial Activity of Chromium(III) and Ruthenium(II) Complexes on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, **BioMed Research International**, 23, p.1-7, 2013.
- [74]. DENDRINOU-SAMARA, C.; *et al.*, Copper(II) complexes with phenoxyalkanoic acids and nitrogen donor heterocyclic ligands: structure and bioactivity, **J. Inorg. Biochem.**, 83 (7), 2001.

ANEXO 1

Na Figura 56, está apresentado o diagrama de Tanabe-Sugano para a configuração d^6 , utilizado para a atribuição da banda em 405 nm (transição de campo ligante ou $d-d$), observada nos espectros eletrônicos na região do UV-Vis, apresentados nas Figuras 35 e 36 da seção 4.6:

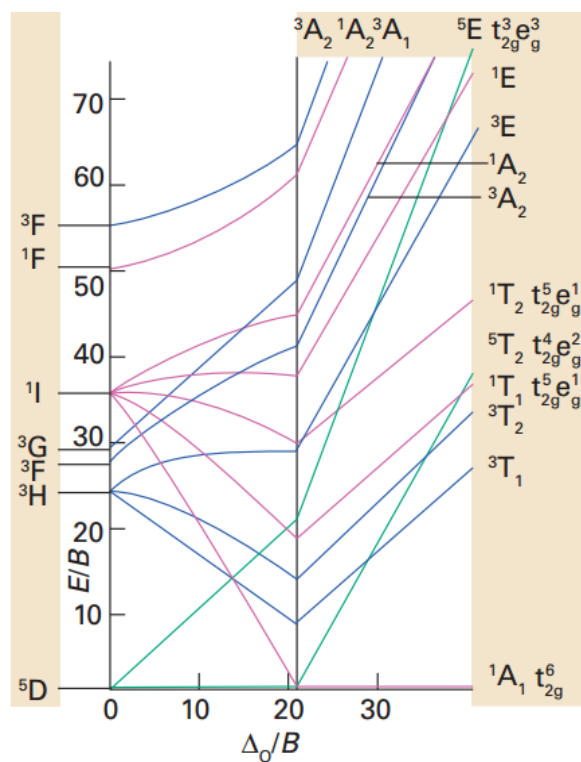


Figura 56: Diagrama de Tanabe-Sugano para a configuração d^6 .^[66]